BAND 35, HEFT 4 JUNI 1959

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo
Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Heidelberg
Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo
Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 54 Abbildungen

1959
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 35 Heft 4 S. 333—444 Berlin 1959

Postverlagsort Berlin

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
13 JUL 1959

INHALT

Abhandlungen

GERLACH, W., Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Cylindrocarpon* Wr. III. *Cylindrocarpon olidum* Wr. und seine phytopathologische Bedeutung. Mit 8 Abb. 333

GÄUMANN, E., und H. KERN, Über die Isolierung und den chemischen Nachweis des Orchinols. Mit 5 Abb. 347

OBRIST, W., Untersuchungen über einige „dothideale" Gattungen. Mit 23 Abb. 357

SCHWENKE, H. J., Untersuchungen über Sporenkeimung und Myzelwachstum von *Septotis populiperda* Waterman et Cash. Mit 4 Abb. 389

KLOFT, W., und P. EHRHARDT, Untersuchungen über Saugtätigkeit und Schadwirkung der Sitkafichtenlaus *Liosomaphis abietina* (Walk.) (*Neomyzaphis abietina* Walk.). Mit 4 Abb. 401

ZYCHA, H., und W. BRAND, Eine Methode zur Bestimmung des Grades der Zerstörung von Fichtenholz durch *Fomes annosus* mit Hilfe des Mikroskopes. Mit 4 Abb. 411

LINDSTEN, K., A preliminary report of virus diseases of cereals in Sweden. With 4 figures 420

AUBERT, O., Note préliminaire sur deux souches peu virulentes du virus de la nécrose des nervures du tabac 429

Kurze Mitteilungen

SCHADE, CHR., Zur Frage der serologischen Verwandtschaft zweier Virusisolate von Rhabarber mit dem Kohlrübenmosaik-Virus 433

BERCKS, R., und G. STELLMACH, Über die antigene Wirksamkeit des Rübenmosaik-Virus 437

RACK, K., Untersuchungen über die elektrostatische Ladung der *Lophodermium*-Sporen. Mit 2 Abb. 439

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photogebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/Main, Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,50 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzes Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69. Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 26,40 DM **Einzelpreis 29,— DM**

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Cylindrocarpon* Wr.

III. *Cylindrocarpon olidum* Wr. und seine phytopathologische Bedeutung

Von

W. Gerlach

Mit 8 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Die *Cylindrocarpon*-Fäule an *Zygocactus* (*Epiphyllum*) *truncatus*, eine bisher unbekannte Krankheit (Erreger: *C. olidum* Wr. var. *crassum* n. v.). — 2. Morphologie und Taxonomie von *C. olidum* Wr. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

In der *Fusarium* nahestehenden Gattung *Cylindrocarpon* hat Wollenweber (15) die meist bodenbewohnenden Arten mit Chlamydosporen zur Sektion *Chlamydospora* zusammengefaßt. Unter diesen ist *C. olidum* Wr. (14) ein zwar recht typischer und auffälliger, anscheinend jedoch nicht sehr häufiger Vertreter. In der Literatur sind jedenfalls nur wenige Hinweise auf diesen Pilz vorhanden. So wurde er u. a. von Saccardo (11, 12) und Wollenweber (14, 16, 17) an faulenden Kartoffelknollen, von Richter (9) an faulendem, mit *Zygocactus (Epiphyllum)* veredeltem *Cereus*, von Anliker (1) an jungen Roggenpflanzen und von Cormack (2) — neben einigen anderen *Cylindrocarpon*-Arten — an kranken Luzernewurzeln gefunden. Obwohl bei verschiedenen dieser Vorkommen eine Beteiligung von *C. olidum* an den beobachteten Fäuleerscheinungen nicht ausgeschlossen erschien, wurden entweder überhaupt keine Infektionsversuche durchgeführt, oder sie verliefen unbefriedigend (2, 13). So wissen wir heute über die Verbreitung und die Schadbedeutung dieser *Cylindrocarpon*-Art noch außerordentlich wenig (vgl. 6).

Im Rahmen von Untersuchungen über die Gattung *Cylindrocarpon*, die im Anschluß an die früheren Arbeiten von Wollenweber (13, 14, 15, 16, 17) vor einigen Jahren im Institut für Mykologie der Biologischen Bundesanstalt

wieder aufgenommen worden sind (4, 5, 10), wurden mehrfach auch Vertreter aus dem Formenkreis des *C. olidum* von verschiedenen Wirtspflanzen und aus dem Boden isoliert und eingehend studiert. Eine Übersicht über die Herkunft dieser *Cylindrocarpon*-Stämme gibt Tabelle 1.

Tabelle 1

Herkunft der *Cylindrocarpon*-Stämme

Stamm	Herkunft	Datum der Isolierung	Wirt	Befallsbild
7100	Berlin-Dahlem	1944	Boden	
7116	Berlin-Dahlem	1944	Boden	
7994	Berlin-Wilmersdorf	27. 10. 1955	*Pelargonium zonale*	Vermorschter Wurzelhals
8492	Berlin-Mariendorf	16. 10. 1957	*Zygocactus truncatus*	Stecklings-Fäule
8636	Berlin-Mariendorf	29. 5. 1958	*Zygocactus truncatus*	Stecklings-Fäule
8720	Lamme bei Braunschweig	17. 10. 1958	*Asparagus officinalis*	Rhizom-Fäule
8793*	Berlin-Mariendorf	13. 2. 1959	*Pelargonium ? zonale*	Vermorschter Wurzelhals

* Für die Überlassung dieses Stammes sei Herrn Dr. PAG, Laboratorium für Zierpflanzenkrankheiten der BBA, an dieser Stelle gedankt.

Es bestand daher die Möglichkeit, an Hand dieses Materials einen näheren Einblick in die Morphologie und die Schadbedeutung dieser *Cylindrocarpon*-Art zu gewinnen. Über diese Untersuchungen und ihre Ergebnisse soll in der vorliegenden Arbeit berichtet werden, zumal dabei erstmalig ein Vertreter aus der Verwandtschaft von *C. olidum* eindeutig als pathogen, und zwar an *Zygocactus truncatus*, nachgewiesen werden konnte (Teil 1 dieser Arbeit) und außerdem innerhalb dieser *Cylindrocarpon*-Art wesentliche morphologische Unterschiede zwischen den einzelnen Isolierungen beobachtet wurden (Teil 2).

1. Die *Cylindrocarpon*-Fäule an *Zygocactus* (*Epiphyllum*) *truncatus* (Haw.) Schum.

Im August 1957 wurden dem hiesigen Institut vom Pflanzenschutzamt West-Berlin faulende Stecklinge und bewurzelte Jungpflanzen von *Zygocactus truncatus*, der für den Erwerbsgärtner wohl wichtigsten und im allgemeinen als „Weihnachts-" oder „Gliederkaktus" bekannten Kaktee, zur Untersuchung zugeleitet. Das Material stammte aus einer umfangreichen *Zygocactus*-Vermehrung einer Westberliner Gärtnerei, in der seit einiger Zeit beträchtliche Ausfälle aufgetreten waren. Aus den recht einheitlichen Befallsstellen der eingesandten Kakteen wurde mehrfach ein *Cylindrocarpon* aus dem Formenkreis von *C. olidum* isoliert (Stamm 8492). Auch von einigen Stecklingen mit Basalfäule einer weiteren, im April 1958 aus dem gleichen Gartenbaubetrieb entnommenen Probe wurde bei der Isolierung dieser *Cylindrocarpon*-Typ erhalten (Stamm 8636), außerdem jedoch häufig ein *Fusarium* aus der *Elegans*-

Gruppe, aus der ja Kakteenfäule-Erreger seit längerem bekannt sind. Spätere, wiederholte Isolierungen und eine eingehende Besichtigung der Ausfälle in der betreffenden Gärtnerei bestätigten dann den Verdacht, daß dieses *Fusarium* in erster Linie für die beobachteten Schäden verantwortlich zu machen sei[1]).

Trotzdem wurden die beiden isolierten *Cylindrocarpon*-Stämme 8492 und 8636 als Einsporkulturen sorgfältig studiert, in Infektionsversuchen an *Zygocactus truncatus* als pathogen nachgewiesen und als ein von *C. olidum* morphologisch abweichender Typ erkannt (vgl. Abb. 6, 7 und 8). Dieser soll im zweiten Teil dieser Arbeit als *C. olidum* var. *crassum* n. v. beschrieben werden.

Das Krankheitsbild der *Cylindrocarpon*-Fäule stimmt weitgehend mit dem bei Kakteenfäulen wohl am häufigsten vorliegenden Befall durch *Elegans*-Fusarien überein, und besonders in fortgeschrittenen Krankheitsstadien dürften *Cylindrocarpon*- und *Fusarium*-Fäule wohl kaum noch voneinander zu unterscheiden sein. Sowohl bei spontan infizierten Pflanzen als auch in den durchgeführten Infektionsversuchen konnte jedenfalls nur durch gewissenhafte Isolierungen bzw. Reisolierungen mit Sicherheit geklärt werden, ob der eine oder der andere Erreger vorlag.

Abb. 1. Erste Symptome der *Cylindrocarpon*-Fäule an *Zygocactus* *(Foto: BBA Berlin-Dahlem)*

Als erste Symptome der *Cylindrocarpon*-Fäule treten an Stecklingen und bewurzelten Jungpflanzen auf dem Teil des untersten Kaktusgliedes, der in dem Vermehrungs- oder Kultursubstrat steckt, beiderseits punktartige, rotbraune, flach eingesunkene Flecke auf (Abb. 1). Diese Befallsstellen sind auf der unverletzten Oberfläche, gelegentlich auch am Rande des untersten Gliedes und bei Stecklingen natürlich regelmäßig an der durch Schneiden oder Abbrechen verursachten Verletzung an der Basis zu finden. Unter günstigen Bedingungen, wie sie besonders bei hoher Feuchtigkeit und Temperaturen um 25 °C oder darüber vorliegen, werden diese Pilzläsionen rasch größer, wobei das nekrotische Gewebe im Innern der Faulstellen pergamentartig eintrocknet, sich aufhellt und sich dann deutlich von den dunkleren, kräftig rostfarbigen Rändern abhebt (vgl. Abb. 1).

[1]) Über die *Fusarium*-Fäulen an *Zygocactus* und an anderen Kakteen soll später in einer gesonderten Veröffentlichung berichtet werden.

Oft fließen bereits nach wenigen Tagen die einzelnen Faulstellen ineinander über, und die Trockenfäule schreitet dann in einer meist klar begrenzten Front über die ganze Breite des befallenen Kaktusgliedes nach oben fort, vielfach in dem weicheren Gewebe beiderseits der Mittelrippe schneller als in dem festeren des Gefäßstranges (Abb. 2 und 3). So schwer angegriffene Stecklinge können sich natürlich nicht mehr bewurzeln (Abb. 2), kippen um und vertrocknen oder verfaulen völlig. Spät befallene Stecklinge und Jungpflanzen, die bereits bewurzelt sind, faulen in der Regel in der gleichen Weise an der Basis durch, während die Wurzeln selbst an solchen Pflanzen noch verhältnismäßig lange gesund sind oder wenigstens äußerlich noch intakt erscheinen (Abb. 3). Nach den bisherigen Beobachtungen an spontan infizierten Kakteen und in Infektionsversuchen dürften die Wurzeln kaum in erheblichem Maße von dem *Cylindrocarpon* direkt geschädigt werden, sondern erst als Folge der Fäule der befallenen Glieder allmählich absterben.

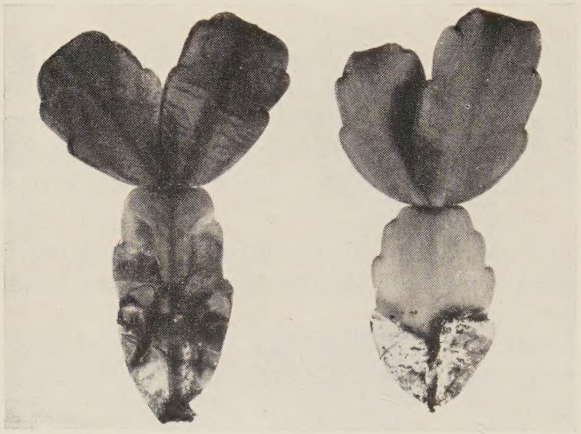


Abb. 2. Weit fortgeschrittene Befallsstadien an Stecklingen *(Foto: BBA Berlin-Dahlem)*

Abb. 3. Typisches Bild der *Cylindrocarpon*-Fäule an bewurzelter *Zygocactus*-Jungpflanze *(Foto: BBA Berlin-Dahlem)*

Die Pathogenität der beiden von *Zygocactus truncatus* isolierten *Cylindrocarpon*-Stämme (8492 und 8636) und der anderen, in Tabelle 1 aufgeführten Herkünfte wurde in Infektionsversuchen an unbewurzelten Stecklingen und an bewurzelten Jungpflanzen der genannten Kaktee geprüft. Als Infektionsmaterial diente für Gewächshausversuche ein Torfsubstrat mit Zusätzen von Sand, Häcksel und Malzextrakt (nähere Angaben über die Zusammensetzung siehe bei GERLACH 3), das mit Myzelstücken der für die Versuche vorgesehenen Pilze beimpft und bei etwa 25 °C nach 3 Wochen von diesen durchwachsen war. Dem Vermeh-

rungssubstrat für Stecklinge (steriler Torfmull und Sand, im Verhältnis 1 : 1 gemischt) und der Pflanzerde für bewurzelte, etwa 2 Monate alte Jungpflanzen (sterilisierte Lauberde, Torfmull und Sand, im Verhältnis 2 : 1 : 1 gemischt) wurde dieses Infektionsmaterial so untergemischt, daß ein 500-ccm-Kolben auf je eine Tonschale von 25 cm Durchmesser (für die Stecklinge) bzw. auf je 10 8-cm-Töpfe (für die Jungpflanzen) kam. Den Kultursubstraten für die Kontrollen wurde nicht beimpftes Torfsubstrat in der gleichen Menge beigegeben. Die Zahl der für jeden Pilzstamm und für die Kontrollen verwendeten Pflanzen betrug dabei jedesmal 50, nämlich 40 unbewurzelte Stecklinge (2 Tonschalen zu je 20) und 10 bewurzelte Jungpflanzen. Nachdem die Kakteen in die verseuchten Substrate gesteckt oder eingetopft worden waren, wurden die Versuche im Gewächshaus aufgestellt und bei etwa 22 bis 25 °C ständig gut feucht gehalten. Um Fremdinfektionen zu verhindern, waren die einzelnen Versuchsglieder durch etwa 30 cm hohe Glasscheiben voneinander getrennt.

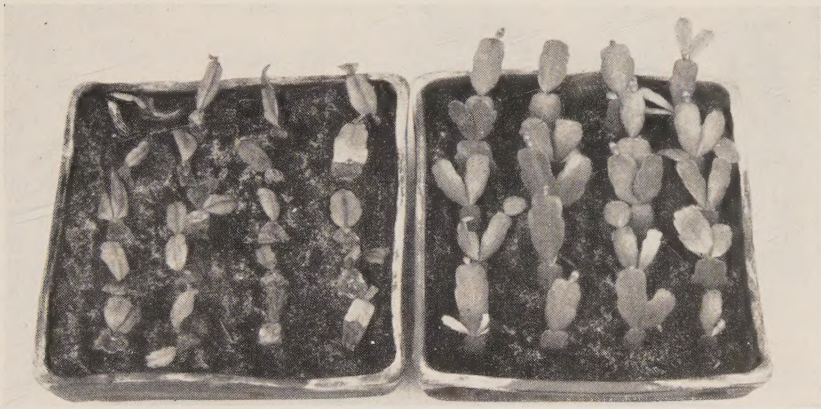


Abb. 4. Infektionsversuch an Stecklingen, 8 Wochen nach der Infektion. Links: Stamm 8636, rechts: Kontrolle
(Foto: BBA Berlin-Dahlem)

Im Verlauf des Jahres 1958 und des Frühjahrs 1959 wurden in Abständen von etwa 2 Monaten 4 getrennte Versuche in der beschriebenen Weise durchgeführt, allerdings nicht immer mit der gleichen Auswahl an Pilzstämmen. Während die beiden *Zygocactus*-Isolierungen (8492 und 8636) in allen 4 Versuchen eingesetzt worden waren, konnten die *Cylindrocarpon*-Herkünfte 7100, 7116, 7994 und 8720 je zweimal und 8793 nur einmal geprüft werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stimmten völlig überein. Die zwei von *Zygocactus* isolierten Stämme waren jedesmal in der Lage, sowohl an Stecklingen als auch an bewurzelten Jungpflanzen Fäule hervorzurufen. Die ersten Symptome (vgl. Abb. 1) traten dabei bereits 4 Tage nach dem Stecken oder dem Eintopfen auf, und nach etwa 6 Wochen waren in der Regel alle Pflanzen der beiden Versuchsreihen 8492 und 8636 mehr oder minder stark gefault (Abb. 4). Alle anderen in

diesen Infektionsversuchen geprüften Stämme von *C. olidum* erwiesen sich als nicht pathogen. In keinem Falle wurden bei den nicht von *Zygocactus* isolierten *Cylindrocarpon*-Herkünften (vgl. Tab. 1) an den Versuchspflanzen Anzeichen einer Fäule beobachtet.

Der endgültige Beweis für die Pathogenität der morphologisch völlig übereinstimmenden Stämme 8492 und 8636 wurde durch wiederholte Reisolierungen erbracht. Verschiedentlich bereiteten diese Schwierigkeiten, besonders wenn dafür nicht frühe Befallsstadien, sondern bereits stark gefaulte Kakteen verwendet wurden. Häufig überdeckten dann rasch wachsende Pilze das *Cylindrocarpon*, das sich in Kultur nur verhältnismäßig langsam entwickelt. So wurde anfangs bei den Reisolierungsversuchen häufig ein *Martiella-Fusarium* vom Typ des *F. solani* (Mart.) App. et Wr. erhalten. Dieser Pilz war jedoch in Infektionsversuchen, in die er später mit einbezogen wurde, an *Zygocactus truncatus* nicht pathogen.

Abb. 5. Stichinfektionen an *Zygocactus*, 8 Tage nach der Infektion. Rechts: *C. olidum* var. *crassum*, Stamm 8636; Mitte: Kontrolle; links: *Elegans-Fusarium*, Stamm 8642 *(Foto: BBA Berlin-Dahlem)*

Parallel zu den geschilderten Gewächshausversuchen liefen Infektionsversuche im Laboratorium. Abgeschnittene Glieder von *Zygocactus* wurden äußerlich desinfiziert, durch Stiche auf den Mittelrippen verletzt und mit einem Tropfen einer dichten Sporenaufschwemmung beimpft. Bereits nach 6 bis 8 Tagen hatten die mit den Stämmen 8492 und 8636 infizierten und in einer Feuchtkammer bei 25 °C aufbewahrten Glieder rotbraune Faulstellen bis zu 5 mm Durchmesser (Abb. 5, rechts), die sich rasch vergrößerten, bis schließlich die Kaktusblätter völlig verfault waren. Noch wirksamer war die Infektion mit einem *Elegans-Fusarium* (Stamm 8642 der Institutssammlung) von *Zygocactus* (Abb. 5, links), das unter den gleichen Bedingungen geprüft wurde. Dagegen zeigten die Kontrollen, für die anstatt der Sporenaufschwemmung steriles Wasser verwendet worden war, in diesen Versuchen keine Fäuleerscheinungen (Abb. 5, Mitte).

Eine spezielle Bekämpfung der *Cylindrocarpon*-Fäule dürfte in Anbetracht der geringen Verbreitung und der keineswegs erheblichen wirtschaftlichen Bedeutung dieser Krankheit wohl kaum erforderlich sein. Da aber in Kakteenkulturen öfters wirksame Maßnahmen zur Vorbeugung gegen andere, wesentlich bedeutendere Pilzfäulen, wie z. B. *Fusarium-*, *Helmintho-*

sporium-, *Rhizoctonia-*, *Phytophthora-* und *Pythium*-Fäulen, notwendig sein dürften, sollen hier wenigstens einige Gesichtspunkte genannt werden.

Die Infektionen gehen in der Regel von der Erde aus, in der die genannten Fäuleerreger saprophytisch leben können. Zur Vermehrung und zur Anzucht von Kakteen sollten daher möglichst keimfreie Substrate wie sauberer Torfmull, gewaschener Sand und gedämpfte Erden sowie neue oder entseuchte Kulturgefäße verwendet werden. In den Kulturräumen und besonders in den Becken, aus denen Gießwasser entnommen wird, muß größte Sauberkeit herrschen. Hohe Temperaturen — nach orientierenden Versuchen liegt das Wachstumsoptimum des *Cylindrocarpon*-Pilzes bei etwa 28 °C — und vor allem übermäßige Feuchtigkeit, die Kakteen ohnehin sehr leicht übelnehmen können, sind vielfach Voraussetzungen für die Pilzfäulen oder fördern diese zumindest. Entsprechende Verhältnises sollten daher bei der Kultur von Kakteen vermieden werden. Kranke Pflanzen stellen gefährliche Herde für eine Weiterverbreitung der Fäulen dar. Die Kakteenbestände sind deshalb sorgfältig zu überwachen und verdächtige oder eindeutig befallene Pflanzen frühzeitig auszusondern und zu vernichten.

Die in den vorangegangenen Abschnitten geschilderten Beobachtungen und Untersuchungen haben gezeigt, daß zwischen verschiedenen Pilzstämmen aus dem Formenkreis des *C. olidum* Wr. Unterschiede in der Pathogenität vorhanden sind. Da die *Zygocactus*-Isolierungen 8492 und 8636 außerdem in der Form und der Größe der Makrokonidien von anderen *Olidum*-Stämmen beträchtlich abweichen und einen ganz bestimmten Typ darstellen dürften, war es notwendig, auch die morphologischen Verhältnisse in dieser *Cylindrocarpon*-Art näher zu studieren. Darüber soll im folgenden Teil der vorliegenden Arbeit berichtet werden.

2. Morphologie und Taxonomie von *Cylindrocarpon olidum* Wr.

Erstmalig dürfte wohl Saccardo (11, 12) 1874 in der Umgebung von Verona (Italien) an einer Kartoffelknolle einen Pilz beobachtet haben, der dem heutigen *Cylindrocarpon olidum* Wr. entspricht (nach Wollenweber 15). Er wurde von ihm für *Fusarium (Fusisporium) solani* (Mart.) Sacc. gehalten. Eine Nachprüfung durch Wollenweber an Hand von Herbarmaterial ergab jedoch, daß Saccardos Fund nicht mit *Fusisporium solani* Mart. (= *Fusarium solani* [Mart.] App. et Wr.) übereinstimmt. Unter der Nummer 471 hat Wollenweber in seinen „*Fusaria* autographice delineata" (14) Sporen des genannten Pilzes abgebildet und vermerkt: „conidiis 3—5-septatis 40—60 × 6—8 μ." Um den gleichen Pilz soll es sich bei einer von Fautrey in Frankreich ebenfalls an Kartoffel gesammelten und im Herbarium des Botanischen Museums in Uppsala aufbewahrten Probe handeln (15). Ein eigener Fund Wollenwebers an einer faulenden Knolle von *Solanum tuberosum* bei Selchow (Mark Brandenburg, Deutschland) im Oktober 1910 (Nr. 653 der „*Fus.* autogr. delin.") gab diesem Veranlassung, 1913 alle die genannten Pilzherkünfte unter dem Namen *Ramularia olidum* Wr. zusam-

menzufassen (13). Mit der Überführung in die 1913 von WOLLENWEBER (13) mit der Typusart *C. cylindroides* Wr. (10) neu geschaffene *Tuberculariaceen*-Gattung *Cylindrocarpon* hat dieser Pilz sicherlich seinen richtigen Platz und seinen gültigen Namen *C. olidum* Wr. erhalten. Ein weiterer Fund, und zwar vom Jahre 1924 aus Berlin, — ebenfalls an faulender Kartoffelknolle — ist unter der Nummer 1087 (14, 16) mit 58 × 7,0 (40—60 × 5,0—7,5) μ großen 3-sept. Sporen und 61 × 7,2 (54—62 × 6,0—8,5) μ großen 5-sept. Konidien angegeben. Die an den aufgeführten Herkünften dieses Pilzes gefundenen morphologischen Verhältnisse hat WOLLENWEBER 1929 in einer erweiterten Diagnose berücksichtigt (15), die hier zum besseren Verständnis der späteren Ausführungen auszugsweise wiedergegeben werden soll:

> Conidia in sporodochiis pionnoteque, albido-mellea, stroma plectenchymicum, e luteo-succineum plus minusve erumpens tegunt subcylindrica, interdum inaequalitere, leviter curva utrinque ellipsoidea v. basi obtuso-conica, 3—5-septata, **3:** 56 × 7,5 plerumque 45—66 × 6,3—8,5; **5:** 66 × 7,6 plerumque 69—89 × 6,3—8,5 (45—102 × 4,5—10,5), rarissime usque ad 7-septata. Chlamydosporae numerosae, singulae, binae, 7—12 (6—17) diam., aut nodose-acervatae. Mycelium floccosum, conidiophori verticillate ramosi. Fungus male olet.

In den Jahren 1931 bis 1932 hat REINKING aus dem Humus von Bananenplantagen in Honduras, Costa Rica und Panama mehrfach einen *Cylindrocarpon*-Pilz isoliert, den er dann 1936 (7, 8) als *C. olidum* Wr. var. *suaveolens* neu beschrieb. Nach seinen Angaben soll sich diese Varietät durch kürzere Konidien von der Grundart unterscheiden und außerdem nach Kümmel riechen, im Gegensatz zu *C. olidum*, das einen sehr starken, widerlichen Geruch besitzt. Darüber hinaus führt REINKING unseptierte Mikrokonidien an (mit einem Anteil von 9 %), die bei der Grundart nicht beschrieben sind und dort auch nicht vorkommen dürften.

Die nun in den Jahren 1955 bis 1959 isolierten und für die eigenen Untersuchungen über die morphologischen Verhältnisse in dem Formenkreis um *C. olidum* Wr. zur Verfügung stehenden Stämme 7994, 8492, 8636, 8720 und 8793 (siehe Tabelle 1) (die Herkünfte 7100 und 7116 waren nicht mehr sicher zu beurteilen, da sie bereits 14 Jahre in Kultur waren) wurden an Hand von Einsporkulturen, die einheitlich auf einer Serie von 6 verschiedenen Nährsubstraten gezüchtet wurden, studiert. Eine solche Nährbodenserie bestand aus: Bierwürzeagar, Möhrendekoktagar, Hafermehlagar, Gerstenähre, Luzernestengel und Reisbrei. (Nähere Angaben über die Zusammensetzung dieser Substrate finden sich bei GERLACH 3.) Die Kulturen wurden bei Zimmertemperaturen und Tageslicht, ohne direkte Sonneneinstrahlung, gehalten.

Makroskopisch stimmten die fünf genannten Stämme untereinander und mit WOLLENWEBERS Diagnose für die Grundart weitgehend überein, allerdings war bei den beiden von *Zygocactus* stammenden Herkünften 8492 und 8636 nur unmittelbar nach der Isolierung ein schwacher Geruch

festzustellen, während die drei anderen Stämme wesentlich eindringlicher nach alter, muffiger Erde rochen und diese Eigenschaft trotz mehrerer Nährbodenpassagen auch bis heute beibehalten haben. Chlamydosporen traten bei allen fünf untersuchten Stämmen im Myzel und in Konidien zahlreich auf; ihre Größen lagen meist zwischen 6 bis 17 μ, wie in der Diagnose für die Grundart angegeben ist (vgl. Seite 340). Typische Mikrokonidien wurden bei ihnen nicht beobachtet, doch waren gelegentlich zu einem geringen Prozentsatz subentwickelte 0-, 1- und 2septierte Sporen

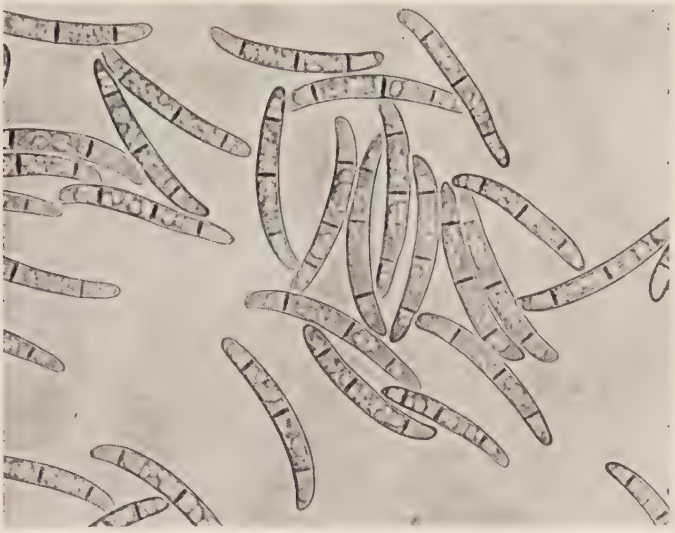


Abb. 6.
Typische Konidien von Stamm 7994 (*Pelargonium*-Herkunft) (500 : 1)
(*Foto: BBA Berlin-Dahlem*)

Abb. 7.
Typische Konidien von Stamm 8492 (*Zygocactus*-Herkunft) (500 : 1)
(*Foto: BBA Berlin-Dahlem*)

vorhanden, besonders in Proben aus sehr frischen, noch nicht voll ausgereiften Sporenlagern. In der Form und in der Dicke der Makrokonidien sowie in den Septierungsverhältnissen wichen jedoch die beiden von *Zygocactus* isolierten Stämme (8492 und 8636) beträchtlich von den Isolierungen von Pelargonie (7994 und 8793) und Spargel (8720) ab. Die drei Pelargonien- und Spargelherkünfte besaßen überwiegend 3septierte, verhältnismäßig schlanke — meist nur 6 bis 6,5 μ dicke —, recht kurze, häufig stärker gekrümmte und am Scheitel mehr hakig zugespitzte Makrokonidien (Abb. 6). Die Stämme von *Zygocactus* hatten dagegen annähernd wurstförmige, im Durchschnitt um 8 bis 8,5 μ dicke, längere, überwiegend 4- und 5septierte Sporen mit stark abgerundeten Scheitelzellen (Abb. 7). Diese beiden „Stammgruppen" müssen daher als zwei völlig verschiedene morphologische Typen aus der Verwandtschaft von *C. olidum* Wr. aufgefaßt werden. Charakteristische Proben der beiden Typen sind in Abbildung 8 nochmals einander gegenübergestellt.

Die auf Grund zahlreicher Messungen an Sporenproben aus Sporodochien von verschiedenen Nährböden ermittelten Sporenwerte — es wurden von jeder Probe je Septenzahl jeweils 50 Konidien gemessen — werden in Tabelle 2 wiedergegeben und mit den von WOLLENWEBER für die Grundart und von REINKING für seine Varietät *suaveolens* genannten Konidiengrößen verglichen. Wie diese Zusammenstellung zeigt, liegen die beiden beschriebenen Typen — in Tabelle 2 als „*C. olidum* Wr., Stämme 7994, 8720 und 8793" bzw. als „*C. olidum* Wr. var. *crassum* n. v." (*Zygocactus*-Herkünfte) bezeichnet — zwar innerhalb der von WOLLENWEBER angegebenen Variationsbreite, in Anbetracht der nicht zu übersehenden morphologischen Verschiedenheit erscheint es jedoch kaum vertretbar, die Grundart als so variabel oder heterogen aufzufassen, daß ihr b e i d e Typen zugeordnet werden könnten. Es sollen daher nur die drei Pelargonien- und Spargelherkünfte zur Grundart gestellt werden, da sie im Sporentyp wesentlich besser zu den von WOLLENWEBER in seinen „*Fusaria* autographice delineata" unter den Nummern 471, 653 und 1087 und in seiner *Cylindrocarpon*-Übersicht (15) auf Seite 163 abgebildeten Sporen passen als die Stämme 8492 und 8636 von *Zygocactus*, obwohl die für sie ermittelten durchschnittlichen Konidiengrößen eindeutig unterhalb der in der Diagnose genannten Werte liegen (vgl. Tab. 2).

Für den von *Zygocactus* isolierten Typ[1]) wäre es vielleicht gerechtfertigt, eine neue Art aufzustellen, doch erscheint dafür die Zahl der bisher untersuchten Stämme aus dem Formenkreis des *C. olidum* Wr. noch zu gering. Ein solcher Schritt soll weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Da für den an *Zygocactus truncatus* pathogenen *Cylindrocarpon*-Pilz auffallend dicke Konidien charakteristisch sind, wird für ihn der Name vorgeschlagen:

Cylindrocarpon olidum Wr. var. *crassum* Gerlach n. v.

Mycelium aerium sparsum, ex albo pallide incarnatum stroma tegens plus minusve plectenchymicum argillaceum, umbrinum, libenter conidia for-

[1]) Während der Drucklegung wurde im April 1959 ein weiterer, mit den beiden Isolierungen von *Zygocactus* völlig übereinstimmender *Cylindrocarpon*-Stamm (8849) isoliert, und zwar von Faulstellen an *Opuntia tuna monstrosa* aus einer Nürnberger Gärtnerei.

mat instrata aut in sporodochiis pionnoteque accumulata, in massa ex albo-mellea, dein albo-cinnabarina, denique aureo-ochroleuca. Conidiophori ramosi, microconidia absunt, macroconidia subcylindrica, interdum inaequali-

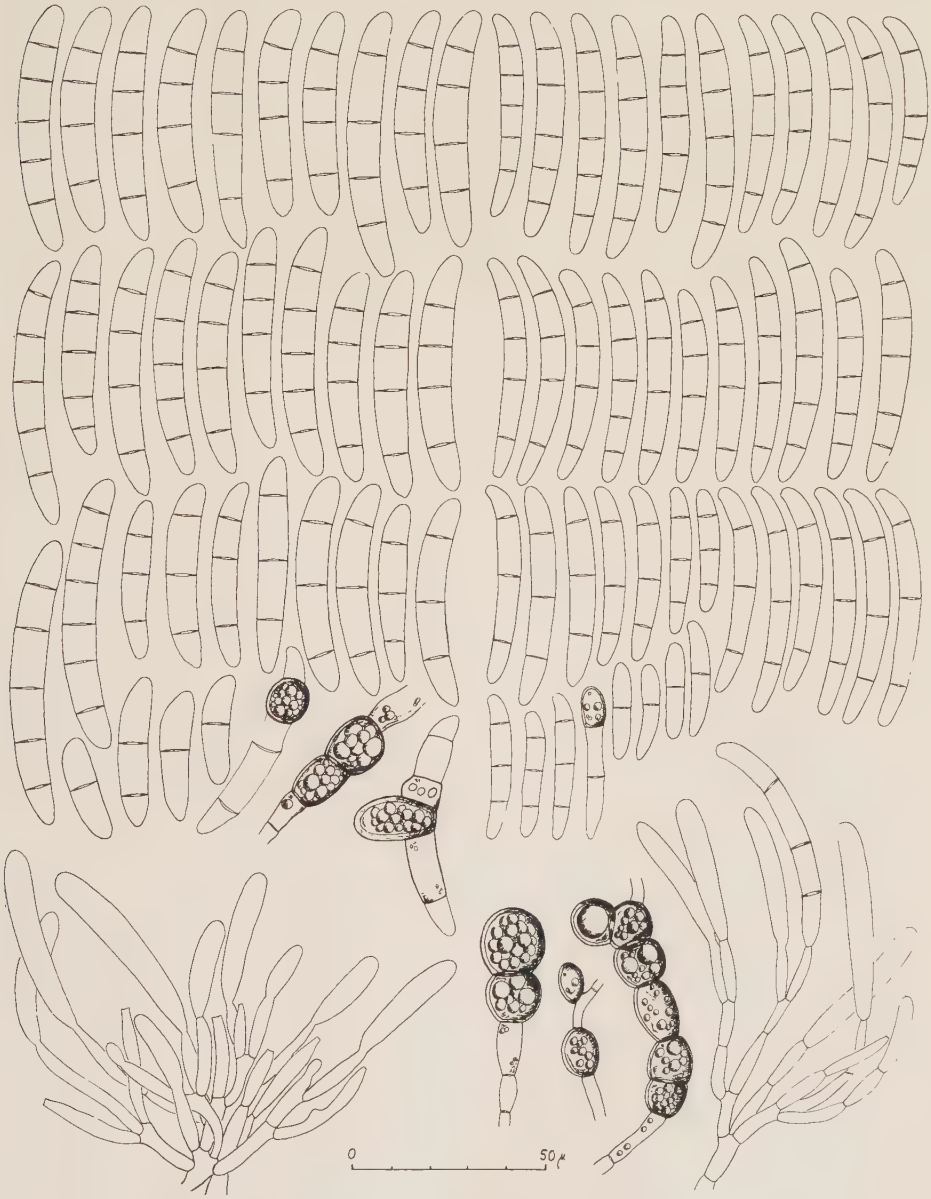


Abb. 8. Typische Konidienproben, Chlamydosporen und Konidienträger von rechts: *C. olidum*, Mischprobe der Stämme 7994, 8720 und 8793; links: *C. olidum* var. *crassum*, Mischprobe der *Zygocactus*-Herkünfte 8492 und 8636 (500 : 1)

Tabelle 2

Konidiengrößen im Formenkreis des *C. olidum* Wr. (in Mikron)
(Vergleich der eigenen Messungen mit den Diagnosen von WOLLENWEBER und REINKING)

Zahl der Septen	Pilzmaterial	Herkunft der Größenangaben	Gemessene Sporen	Durchschnitt		Absol. Schwankung	
				Länge	Dicke	Länge	Dicke
0	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		10,0 × 4,3		8 – 14 × 3,5 – 6,3	
1	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		18,0 × 4,8		13 – 33 × 4,3 – 7,0	
	C. olidum Wr., Stämme 7994, 8720 u. 8793	eigene Messungen	100	28,3 × 4,8		20 – 42 × 4,4 – 6,0	
2	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		26,0 × 5,4		20 – 36 × 4,5 – 6,0	
3	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		43,0 × 7,3		28 – 59 × 5,3 – 9,0	
	C. olidum Wr.	Diagnose WOLLENWEBER (15)		56,0 × 7,5		45 – 66 × 6,3 – 8,5	
	C. olidum Wr., Stämme 7994, 8720 u. 8793	eigene Messungen	700	49,8 × 6,3		28 – 67 × 4,6 – 8,0	
	C. olidum Wr. v. *crassum* n. v.	eigene Messungen	400	55,0 × 8,0		40 – 66 × 6,4 – 9,3	
4	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		55,0 × 7,5		45 – 68 × 6,5 – 8,8	
	C. olidum Wr., Stämme 7994, 8720 u. 8793	eigene Messungen	500	54,8 × 6,5		45 – 71 × 5,0 – 8,0	
	C. olidum Wr. v. *crassum* n. v.	eigene Messungen	400	59,6 × 8,2		50 – 73 × 6,5 – 10,0	
5	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		60,0 × 7,8		48 – 74 × 6,5 – 9,3	
	C. olidum Wr.	Diagnose WOLLENWEBER (15)		66,0 × 7,6		45 – 102 × 4,5 – 10,5	
	C. olidum Wr., Stämme 7994, 8720 u. 8793	eigene Messungen	200	57,4 × 6,7		48 – 70 × 5,5 – 8,0	
	C. olidum Wr. v. *crassum* n. v.	eigene Messungen	400	63,1 × 8,4		53 – 79 × 7,2 – 10,2	
6	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		74,0 × 7,8		62 – 80 × 7,3 – 9,3	
	C. olidum Wr., Stämme 7994, 8720 u. 8793	eigene Messungen	2	64,0 × 7,5		63 – 65 × 7,0 – 8,0	
	C. olidum Wr. v. *crassum* n. v.	eigene Messungen	7	71,4 × 8,8		63 – 81 × 8,1 – 9,8	
7	*C. olidum* Wr. v. *suaveolens* Rg.	Diagnose REINKING (7)		54,0 × 7,8			

tere, leviter curva utrinque ellipsoidea vel basi obtuso-conica, 3—5-, rarissime 6-septata.

3-sept.	55,0 × 8,0	(40—66 × 6,4— 9,3)
4-sept.	59,6 × 8,2	(50—73 × 6,5—10,0)
5-sept.	63,1 × 8,4	(53—79 × 7,2—10,2)
6-sept.	71,4 × 8,8	(63—81 × 8,1— 9,8)

Chlamydosporae numerosae terminales vel intercalares glabrae, globosae aut ellipsoideae, 0—1-septatae vel catenulatae, 6—20 diam., aut nodose-acervatae.

Fungus in culturis puris vix male olet.

Habitat in fol. putr. Zygocacti truncati parasitans, plantis valde noxium; Berolini, Germaniae (GERLACH 1957—1958 bis legit).

Obs. A typo recedit conidiis crassioribus.

Zusammenfassung

1. In den Jahren 1957 und 1958 trat in den Anzuchten von *Zygocactus (Epiphyllum) truncatus* (Haw.) Schum. einer Westberliner Gärtnerei eine Fußfäule in beachtlichem Ausmaße auf. Die Ausfälle dürften zwar in erster Linie auf Befall durch ein *Fusarium* der *Elegans*-Gruppe zurückzuführen sein, doch konnte aus einheitlichen Faulstellen mehrfach ein *Cylindrocarpon*-Pilz aus der Verwandtschaft von *C. olidum* Wr. isoliert werden.

2. Die Symptome und der Verlauf der Fäule werden beschrieben, die Pathogenität des *Cylindrocarpon* in Infektionsversuchen nachgewiesen und Möglichkeiten der Bekämpfung erörtert.

3. Es werden die morphologischen und taxonomischen Verhältnisse in dem Formenkreis um *C. olidum* Wr. geschildert und diskutiert. Der Erreger der *Zygocactus*-Fußfäule wird mit anderen Stämmen dieser *Cylindrocarpon*-Art und mit den Diagnosen der Grundart und der Varietät *suaveolens* Rg. verglichen, als ein morphologisch von diesen eindeutig abweichender Typ aufgefaßt und als *C. olidum* Wr. var. *crassum* Gerlach n. v. beschrieben.

Für die Anfertigung der photographischen Abbildungen bin ich Herrn E. SCHÄLOW, Biologische Bundesanstalt, zu besonderem Dank verpflichtet.

Summary

1. In the years 1957 and 1958 a rather severe attack of foot rot in cultures of *Zygocactus (Epiphyllum) truncatus* (Haw.) Schum. occurred in a nursery in West-Berlin. The losses were apparently occasioned primarily by an attack of a *Fusarium* of the *Elegans* group but from many of the lesions a *Cylindrocarpon*, closely related to *C. olidum* Wr., could often be isolated.

2. The symptoms and the course of infection are described, the pathogenicity of the *Cylindrocarpon* is demonstrated in infection experiments and the possibilities of control are discussed.

3. The morphological and taxonomic relationships within the species *C. olidum* Wr. are described and discussed. The pathogen of the *Zygocactus* foot rot is compared with other strains of this *Cylindrocarpon* species and with the diagnoses of the basic species and the variety *suaveolens* Rg.; it is regarded as a type deviating morphologically from these and described as *C. olidum* Wr. var. *crassum* Gerlach n. v.

Literaturverzeichnis

1. Anliker, J., 1935: Beiträge zur Kenntnis der Fusariose des Roggens. Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz **8**, 4, 115 pp.
2. Cormack, M. W., 1937: *Cylindrocarpon ehrenbergi* Wr., and other species, as root parasites of Alfalfa and Sweet Clover in Alberta. Canad. J. Res. **15**, 403—424.
3. Gerlach, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—176.
4. — —, 1956: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Cylindrocarpon* Wr. I. *Cylindrocarpon radicicola* Wr. als Krankheitserreger an Alpenveilchen. Phytopath. Z. **26**, 161—170.
5. — —, 1959: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Cylindrocarpon* Wr. II. *Cylindrocarpon Victoriae* (P. Henn.) Wr. Phytopath. Z. **35**, 292—300.
6. Nicot, J,. 1951: Revue systématique du genre *Cylindrocarpon* Wollenweber. Rev. de Mycol. **16**, 36—61.
7. Reinking, O. A., 1936: *Cylindrocarpon* fungus studies. Zbl. Bakt. II, **94**, 134—136.
8. — —, 1936: *Cylindrocarpon* isolations from tropical soils. Zbl. Bakt. II, **94**, 137—142.
9. Richter, H., 1933: Unveröffentlichte Aufzeichnung. Biol. Bundesanst., Inst. f. Mykologie, Berlin-Dahlem.
10. — —, und W. Gerlach, 1958: Über die Typus-Art der Gattung *Cylindrocarpon* Wr. und ihre *Nectria*-Hauptfruchtform. T. Plantenziekten **64**, 392—395.
11. Saccardo, P. A., 1881: Michelia **2**, 296.
12. — —, 1886: Sylloge Fungorum **4**, 705.
13. Wollenweber, H. W., 1913: *Ramularia, Mycosphaerella, Nectria, Calonectria.* Phytopathology **3**, 196—242.
14. — —, 1917: *Fusaria* autographice delineata. Ann. mycol. **15**, 1—56. Berlin, 1926 bis 1935, 1200 Tafeln.
15. — —, 1929: Über Fruchtformen der krebserregenden *Nectriaceen.* Z. Parasitenk. **1**, 138—173.
16. — —, 1931: *Fusarium*-Monographie. Fungi parasitici et saphrophytici. Z. Parasitenk. **3**, 269—516.
17. — —, 1943: *Fusarium*-Monographie II. Zbl. Bakt. II, **106**, 104—135 u. 171—202.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über die Isolierung und den chemischen Nachweis des Orchinols[1])

Von

E. Gäumann und H. Kern[2])

Mit 5 Abbildungen

In einer Arbeit über chemische Abwehrreaktionen bei Orchideen, die demnächst in dieser Zeitschrift erscheint, werden wir über das *Orchinol* (Boller, Corrodi, Gäumann et al. 1957) berichten, einen Abwehrstoff, der von einigen Orchideen als Antwort auf einen Infekt neu gebildet wird. Um unsere biologisch orientierte Darstellung nicht mit methodisch-technischen Einzelheiten zu belasten, nehmen wir in der vorliegenden Publikation die Darstellung der Arbeitsmethoden vorweg.

Die zu prüfenden Orchideen wurden jeweils während ihrer Blütezeit im Freiland ausgegraben und in Triebbeete in ein Sand-Torf-Gemisch verpflanzt. Als Düngung erhielten sie von Zeit zu Zeit eine Knopsche Nährlösung in zehnfacher Verdünnung.

§ 1. Die Aktivierung der Orchideenknollen

Im Herbst und Winter (August-Februar) wurden die Knollen sukzessive ausgegraben und gewaschen; in früheren Jahren wurden sie während 3 Minuten in 1 ‰-Sublimatlösung desinfiziert und hernach mit sterilem Wasser gewaschen; in neuerer Zeit wurden sie dagegen unmittelbar mit Propylenoxyd (Hansen und Snyder 1947) desinfiziert, das sich als weit zuverlässiger erwies.

1) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

2) Unter Mitwirkung von R. Braun, H. Corrodi, E. Hardegger, H. R. Hohl, J. Nüesch, M. Schellenbaum und H. Schüepp.

Nach der Desinfektion wurden die Knollen unter sterilen Bedingungen in etwa 2 mm dicke Scheiben zerlegt, in sterile Glaxokolben eingefüllt und mit einer Sporensuspension aus Reiskulturen von *Rhizoctonia repens* Bern. (Stamm E. T. H. M 32, isoliert aus Wurzeln von *Orchis militaris)* beimpft. Nach gründlichem Schütteln und Abgießen der überschüssigen Sporensuspension wurden die Knollenfragmente bei 27 °C während 10 bis 14 Tagen inkubiert. In dieser Zeit bildete der Pilz ein dichtes, weißes Myzel (Abb. 1); die weißen Schnittflächen der Knollenfragmente verfärbten sich braun.

Abb. 1. Knollenfragmente von *Orchis militaris* nach zehntägiger Inkubation mit *Rhizoctonia repens*. Rund 1/3 nat. Gr.

Es ist wichtig, die Knollenfragmente nicht zu klein zu wählen, damit ihre Gewebe am Leben bleiben und reagieren.

§ 2. Die biologische Prüfung des Hemmstoffgehaltes

Die biologische Prüfung der gleich zu besprechenden Knollenextrakte erfolgte in erster Linie mit dem *Rhizoctonia solani*-Test von GROSSER und FRIEDRICH (1947).

Testpilz war der sehr rasch wachsende Stamm GRODSINSKY von *Rhizoctonia solani* Kühn. Für die Gewinnung des Impfmaterials wurde ein Stück der Pilzkultur in der Mitte einer Petrischale auf Kartoffelagar gelegt und bei 27 °C 4 bis 5 Tage im Dunkeln inkubiert.

Als Testgefäße dienten Petrischalen von etwa 32 mm Durchmesser und etwa 15 mm Höhe. Verdünnungsreihe: in jede Schale wurden 2 ml Phosphatpuffer nach GROSSER und FRIEDRICH, pH 4,9 bis 5,1, eingefüllt. 2 ml der zu testenden Lösung wurden in die erste Schale gegeben; die Flüssigkeit wurde

gut gemischt, und von der Mischung wurden 2 ml in die 2. Schale gegeben usw. Aus der letzten Schale wurden 2 ml weggegossen. Normalerweise wurde mit 5 Stufen gearbeitet, also mit Verdünnungen von $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$.

Die Schalen wurden mit einem Stückchen der Kultur von *Rhizoctonia solani* auf Kartoffelagar (mit einem Korkbohrer von 5 mm Durchmesser ausgestochen) beimpft; es muß, mit der bewachsenen Seite nach oben, auf der Flüssigkeit in den Schalen schwimmen, worauf die Hyphen innerhalb 20 Stunden bis 2 cm weit auf die Flüssigkeitsoberfläche hinauswachsen. Mit jedem Test wurden gleichzeitig als Kontrolle 5 Schalen zu je 2 ml Phosphatpuffer beimpft, welche meistens ein sehr gleichmäßiges Wachstum zeigten.

Um den Grad der Hemmung zu bestimmen, wurden die gemessene Myzellänge und die Konzentrationen der zu prüfenden Hemmstofflösung graphisch aufgetragen, die Konzentrationen auf der logarithmischen Abszisse und die Myzellänge auf der linearen Ordinate. Die Punkte lagen ungefähr auf einer Geraden. Die 50 %-Linie entsprach der halben Myzellänge der Kontrolle. Der Schnittpunkt der Wirkungsgeraden mit der 50 %-Linie ergab die Hemmwirkung der Substanzen in Einheiten, die wir als Grosser-Einheiten bezeichnen. Eine Grosser-Einheit besitzt somit diejenige Substanzmenge je ml, die das Myzelwachstum der *Rhizoctonia repens* innerhalb 20 Stunden auf die Hälfte reduziert.

Da Methanol als Lösungsmittel der zu prüfenden Substanzen ungünstig ist und zu unregelmäßigen Ergebnissen führt, wurde statt seiner Aethanol verwendet. Eine 5 %ige Aethanollösung hemmt nur schwach (3 bis 4 Einheiten). Am günstigsten wäre es, mit wässerigen Lösungen zu arbeiten; dies war jedoch wegen der Lipophilie des Orchinols nicht möglich.

§ 3. Die chemische Aufarbeitung der Knollen

Die inkubierten Knollenstücke wurden zunächst mit 96 % Aethanol bei Zimmertemperatur während eines Tages extrahiert. Nach Abgießen des Aethanols wurden sie mit frischem Aethanol im Turmix zerschlagen und bei Zimmertemperatur drei Tage stehengelassen. Anschließend folgten zwei Extraktionen mit Aethanol-Äther (2 : 1 und 1 : 2) während je 3 bis 4 Tagen und zum Schluß eine solche mit Aether während 2 bis 3 Tagen. Die ersten Extrakte waren intensiv braun, die letzten praktisch farblos. Alle Aethanol- und Ätherextrakte wurden vereinigt. Die vereinigten Extrakte wurden mit Kaliumhydrogencarbonat, Soda und Natronlauge ausgeschüttelt (Boiler et al., 1957).

Die biologische Prüfung der bei der weiteren Aufarbeitung anfallenden Fraktionen erfolgte in erster Linie nach dem soeben beschriebenen *Rhizoctonia*-Test von Grosser und Friedrich. Dabei zeigte es sich, daß die Hauptmenge der wirksamen Stoffe im benzollöslichen Neutralteil enthalten ist. In der Folge wurde deshalb nur der benzollösliche Neutralteil untersucht und die Bearbeitung der übrigen Fraktionen zurückgestellt.

Im Falle der *Orchis militaris* wurden 10 g des benzollöslichen Neutralteiles an 300 g Aluminiumoxyd der Aktivität IV (neutrales Aluminiumoxyd der Aktivität I + 10 % Wasser) chromatographiert (BOLLER et al., 1957, und neuere Arbeiten). Die Eluierung erfolgte mit Benzol, Äther und Methanol-Eisessig in Fraktionen von 250 ml; das im folgenden beschriebene erste Benzoleluat entspricht ungefähr den ersten 500 ml Benzol, das zweite Benzoleluat den folgenden 250 ml und das dritte Benzoleluat den Fraktionen zwischen 1000 und 2000 ml. Die Auftrennung ergab die folgenden Fraktionen:

1. Die chromatographische Auftrennung des ersten Benzoleluates an Aluminiumoxyd der Aktivität I führte zur Isolierung von Cumarin und zu einem gelblichen Öl (Fraktion A 26), das noch nicht näher untersucht wurde. Ein Ansatz von 9900 g Knollen lieferte beispielsweise 4,1 g Cumarin (0,41 ‰ des Knollenfrischgewichtes) und 1,15 g der Fraktion A 26 (0,12 ‰ des Knollenfrischgewichtes). In anderen Ansätzen war der Cumaringehalt erheblich geringer.

Die Fraktion A 26 war in allen unseren Versuchen biologisch inaktiv. Sie enthält keine diimid-positiven Anteile (siehe § 4). In nicht aktivierten, sofort nach dem Graben extrahierten Knollen findet sich eine entsprechende, ähnlich erscheinende ölige Fraktion. Ihre Menge ist geringer als in den aktivierten Knollen. Wieweit die beiden öligen Fraktionen identisch sind, läßt sich noch nicht sagen.

2. Das zweite Benzoleluat lieferte eine kristallisierte Verbindung (Fraktion L 100), die noch nicht näher charakterisiert werden konnte. Ein Ansatz von 10 kg aktivierten Knollen ergab rund 100 mg dieser Fraktion; ob sie in nicht aktivierten Knollen ebenfalls vorhanden ist, läßt sich, da sie in sehr geringer Menge anfällt, noch nicht entscheiden. Jedenfalls ist sie aber, weil biologisch inaktiv, für das uns hier interessierende Problem der Infektabwehr bedeutungslos. Sie scheint überdies auch in aktivierten Knollen nicht immer vorhanden zu sein.

3. Das dritte Benzoleluat führte zur Isolierung des Orchinols ($C_{16}H_{16}O_3$, Mol. gew. 256).

In diesem Benzoleluat findet sich ferner eine vorläufig als L 87 bezeichnete Fraktion, die ebenfalls diimid-positiv ist (siehe § 4). Diese Fraktion ist auch in den im § 4 beschriebenen Petrolätherextrakten neben dem Orchinol vorhanden.

4. Das Äthereluat lieferte eine kristallisierte Verbindung, die anfänglich als L 83 bezeichnet und später durch Dr. H. CORRODI mit dem p-Hydroxy-benzylalkohol ($C_7H_8O_2$, Mol. gew. 124) identifiziert wurde. Auch diese Substanz ist diimid-positiv (siehe § 4). Ein Ansatz von 10 kg aktivierter Knollen lieferte im Neutralteil 110 mg dieser Verbindung; die Gesamtmenge ist jedoch größer, da der Stoff auch im Natronlaugenextrakt vorhanden ist.

In frisch gegrabenen, sorgfältig von den spontan infizierten Stellen befreiten Knollen läßt sich die Fraktion L 83 papierchromatographisch nicht mit Sicherheit nachweisen. Meistens sind die Ergebnisse negativ, gelegentlich

aber auch sehr schwach positiv. Wir stellen uns vor, daß in derartigen positiven Fällen die Spuren p-Hydroxy-benzylalkohol aus den weggeschnittenen spontanen Infektionsstellen stammen und wegen der besseren Wasserlöslichkeit des p-Hydroxy-benzylalkoholes weiter in die intakt gebliebenen Knollengewebe hinausdiffundiert sind als beispielsweise das Orchinol.

5. Die Methanol-Eisessig-Eluate lieferten ein noch nicht näher untersuchtes Rohprodukt. In nicht aktivierten, unmittelbar nach dem Graben extrahierten Knollen wurde diese Komponente nicht gefunden; in nicht aktivierten, jedoch bei 27 °C gelagerten und durch die latenten Infekte sich abbauenden Knollen tritt sie dagegen auf, jedoch in geringerer Menge als in laboratoriumsmäßig aktivierten Knollen.

§ 4. Nachweis und quantitative Bestimmung des Orchinols

a) Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

Wir zerhackten jeweils etwa 15 g Knollen im Turmix mit dem zehnfachen Überschuß an absolutem Alkohol und zentrifugierten das Homogenisat nach einer Stunde bei 2500 Umdrehungen pro Minute während 10 Minuten. Nach erneuter Extraktion des Rückstandes wurden die festen Bestandteile abzentrifugiert. Die vereinigten Alkoholextrakte wurden am Vakuum bei 50 °C auf 30 ml eingeengt, mit Wasser auf 60 ml verdünnt und anschließend viermal mit je der dreifachen Menge Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherextrakte engten wir am Vakuum bei 30 °C zur Trockne ein und nahmen den Rückstand in der Regel in 20 bis 50 ml absolutem Alkohol auf.

Für den qualitativen Orchinolnachweis genügt meist die einfache Alkoholextraktion; gelegentlich können jedoch Begleitsubstanzen Störungen verursachen (Substanzüberlagerungen auf dem Chromatogramm).

Für den (vorwiegend qualitativen) papierchromatographischen Nachweis von Orchinol, L 83 und L 87 in kleinen Knollenmengen (1 bis 5 g) erwies sich eine andere Aufarbeitungsmethode als günstig. Wir zerschnitten und zerrieben die Knollen, extrahierten während 3 Tagen bei 3 °C mit einem Lösungsmittelgemisch von Essigester-Wasser-Alkohol (34 : 13 : 53), filtrierten den Brei ab, spülten mit dem Lösungsmittelgemisch nach und engten den Extrakt auf 10 ml ein. Die so erhaltene wässerige Lösung wurde dreimal mit je der doppelten Menge Essigester ausgeschüttelt und jede Essigesterphase zur Reinigung einmal mit Wasser geschüttelt. Die vereinigten Essigesterphasen wurden eingeengt und chromatographiert.

b) Chromatographie

Die Methode für den papierchromatographischen Nachweis des Orchinols verdanken wir Herrn Max Schellenbaum vom Organisch-chemischen Laboratorium unserer Hochschule (Abt. Prof. Dr. E. Hardegger).

Wir chromatographierten das Orchinol auf Whatman-Papier Nr. 1 eindimensional und absteigend in einem Laufmittelgemisch von Methanol-Was-

ser (1 : 1) bei 26 °C während etwa 7 Stunden (Abstand zwischen Start- und Frontlinie 30 bis 35 cm); die Trocknung erfolgte bei 50 °C während 15 Minuten. Orchinol besitzt unter diesen Bedingungen einen R_f-Wert von 0,36 (Abb. 2).

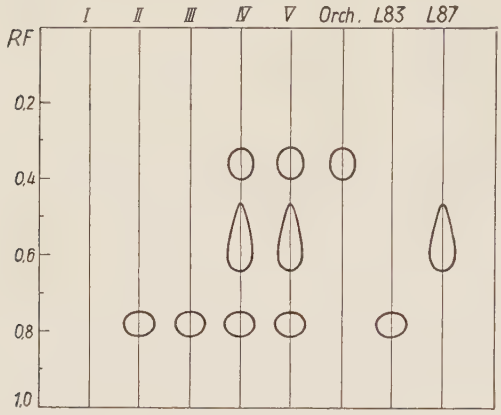


Abb. 2. Schematische Darstellung der papierchromatographischen Prüfung von äthanolischen Extrakten aus verschiedenen Teilen von *Orchis militaris:*

I Frisches Knolleninneres.
II Frische, nicht sichtbar infizierte Knollenwand.
III Frische, nicht laboratoriumsmäßig infizierte Wurzeln.
IV Spontan infizierte Knollenteile.
V Laboratoriumsmäßig mit *Rhizoctonia repens* infizierte Knollen.

Orch. = Orchinol · L 83 = p-Hydroxybenzylalkohol

Zur Untersuchung von weiteren in den Extrakten vorhandenen Phenolen oder phenolartigen Verbindungen eignet sich Wasser allein als Laufmittel; das Orchinol bleibt dabei in der Nähe der Startlinie zurück.

c) Qualitativer Nachweis des Orchinols

Auf dem getrockneten Chromatogramm läßt sich das Orchinol auf Grund der folgenden Eigenschaften lokalisieren:

1. Farbreaktionen mit Dichlorchinon-chlorimid (im folgenden als Diimid bezeichnet). Wir besprühten die Chromatogramme mit einer frisch angesetzten Lösung von 10 mg Diimid in 100 ml Alkohol und unmittelbar darauf mit einer gesättigten, wässerigen Boraxlösung (19 g pro L). Das Orchinol wird als charakteristischer, grüngrauer Fleck sichtbar. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 10 γ.

Von den übrigen diimid-positiven Substanzen erscheint der p-Hydroxybenzylalkohol (Fraktion L 83) als gut begrenzter, lichtblauer Fleck bei R_f 0,79 und die Fraktion L 87 in bläulicher Farbe mit einem R_f-Wert von etwa 0,6 (Abb. 2). Einen deutlich begrenzten Fleck erhielten wir mit L 87 nur bei sehr geringen Substanzmengen; in höherer Konzentration schmiert diese Fraktion über eine größere Strecke.

2. Fluoreszenz im Ultraviolettlicht (UV). Orchinol zeigt im UV eine violette Fluoreszenz. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 1 γ.

3. Lumineszenz im UV. Orchinol leuchtet im UV mit grüner Farbe kräftig nach. Dieser Effekt läßt sich noch bei 0,1 γ sehr deutlich von dem ebenfalls schwach nachleuchtenden Papieruntergrund trennen.

d) Quantitative Bestimmung auf Grund der Fluoreszenz im UV

Wir trugen verschiedene Mengen des Petrolätherextraktes (im Verhältnis 1 : 3 : 9) punktförmig auf (Durchmesser 6 bis 8 mm) und chromatographierten in der bereits beschriebenen Weise. Die fluoreszierenden Orchinolflecke wurden unter ultraviolettem Licht markiert und anschließend mit einem Planimeter ausgemessen. Mit Orchinollösungen bekannten Gehaltes wurde eine Eichkurve aufgenommen (Abbild. 3); wegen der subjektiven Schwankungen beim Abgrenzen der Flächen im UV gilt die Eichkurve nur für ein und dieselbe Person. Die Eichkurve verläuft im Bereich von 0,5 bis 2,5 γ linear. Der Fehler der Einzelmessung beträgt ± 25 %; die untere Bestimmungsgrenze liegt bei 10 γ.

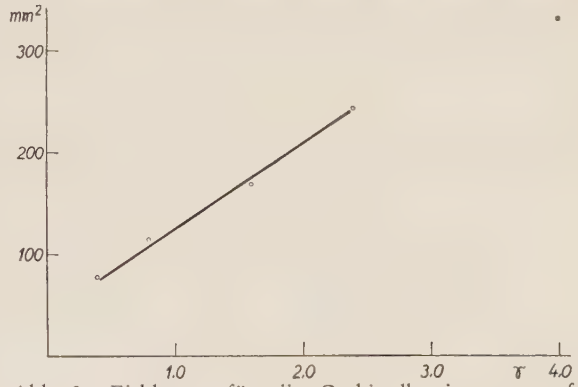


Abb. 3. Eichkurve für die Orchinolbestimmung auf Grund der Fluoreszenz im UV. Abszisse: Orchinolmenge in γ. Ordinate: Fläche des fluoreszierenden Fleckes in mm²

e) Quantitative Bestimmung auf Grund der Absorption im UV

Orchinol besitzt im UV bei 280 mμ ein Absorptionsmaximum. An Hand einer Eichkurve (Abb. 4) lassen sich unbekannte Orchinolkonzentrationen in reinen Lösungen mit einer Genauigkeit von ± 5 % feststellen. Die gelbbraunen Knollenextrakte absorbieren dagegen im UV so stark, daß eine Bestimmung des Orchinolgehaltes auch aus dem weitgehend entfärbten Petrolätherextrakt erst nach Papierchromatographie und Eluierung möglich ist.

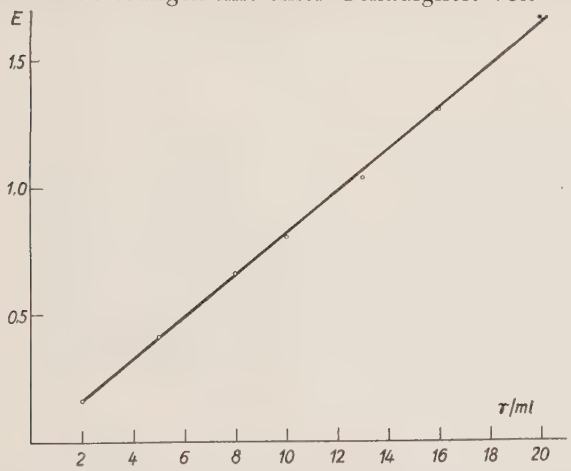


Abb. 4. Eichkurve für die Orchinolbestimmung auf Grund der Absorption im UV, Zeiss-Spektralphotometer, Schichtdicke 1 cm. Abszisse: Orchinolkonzentration in γ/ml. Ordinate: Extinktion bei 280 mμ

Wir trugen zu diesem Zweck eine bestimmte Menge des Petrolätherextraktes (die nach Möglichkeit 50 bis 100 γ Orchinol enthalten soll) auf einen 7 cm breiten Streifen auf, chromatographierten wie üblich und markierten das Orchinol im UV. Das ausgeschnittene Papierstück

wurde mehrere Male mit Alkohol bei 60 °C eluiert und im UV auf allfällige Orchinolspuren geprüft. Nach Eindampfen des Extraktes zur Trockne und Lösen in wenig absolutem Alkohol wurde die Extinktion bei 280 mμ gemessen und die Extinktion einer gleich behandelten Papierblindprobe (gleiche Größe, gleiche Anzahl der Extraktionen und gleiche Lösungsmittelmenge) davon abgezogen. Die Messung kann auch direkt gegen diese Blindprobe erfolgen, wodurch die Subtraktion vermieden wird. Die Eichkurve ist in Abbildung 4 wiedergegeben. Nach den bisherigen Ergebnissen dürfte der Fehler bei ± 10 bis 20 % und die untere Bestimmungsgrenze bei 20 γ liegen.

f) Kolorimetrische Bestimmung des Orchinolgehaltes

Der Test beruht auf derselben Farbreaktion wie der qualitative Orchinolnachweis auf dem Papierchromatogramm. Er eignet sich — abgesehen von reinen Orchinollösungen — unter bestimmten Voraussetzungen für die Orchinolbestimmung in Gemischen mit weiteren diimid-positiven Substanzen; ist deren Konzentration zu hoch, muß zuerst chromatographiert und eluiert werden.

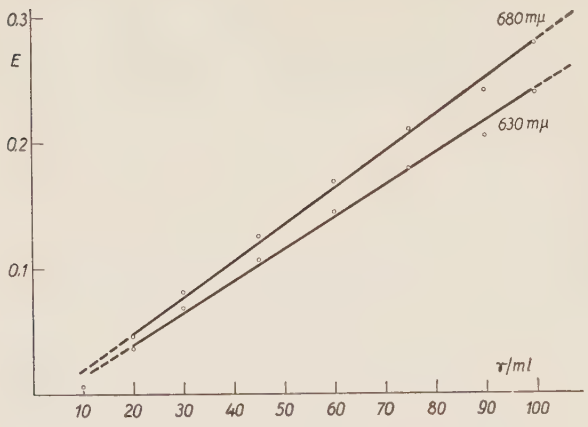


Abb. 5. Eichkurve für die kolorimetrische Orchinolbestimmung.

Abszisse: Orchinolkonzentration in γ/ml.
Ordinate: Extinktion bei 630 bzw. 680 mμ

1. Orchinolbestimmung in reinen Lösungen. Wir mischten in einem Reagenzglas 3 ml der Testlösung mit 1 ml des frisch zubereiteten Farbreagens (0,5 mg Diimid je ml absoluten, frisch destillierten Alkohols) und 0,1 ml Boraxlösung (19 g je l dest. Wasser) unter mehrmaligem Kippen des Röhrchens. Die Messung der Extinktion erfolgte 30 Minuten bei 680 mμ gegen eine Blindprobe mit 3 ml absoluten Alkohols, die eine starke Eigenfärbung zeigte. Die Eichkurve ist in Abbildung 5 wiedergegeben; der Fehler der Einzelmessungen beträgt ± 10 %, die untere Bestimmungsgrenze liegt bei 60 γ. Das pH der Lösung muß nach Zugabe der Boraxlösung über 9 liegen.

2. Orchinolbestimmung in Gemischen mit anderen diimid-positiven Substanzen. Petrolätherextrakte aus Knollen usw. enthalten neben dem Orchinol (Absorptionsmaximum bei 680 mμ) noch andere diimid-positive Substanzen; für unsere Messungen genügte es, die Fraktion L 87 mit dem Absorptionsmaximum bei 630 mμ zu berücksichtigen.

Die rechnerische Eliminierung dieser störenden Verbindungen ist unter den folgenden Voraussetzungen möglich:

a) die Extinktionswerte müssen zwischen 0,080 und 0,300 (also im günstigsten Bereich der Eichkurve) liegen.

b) die Extinktion bei 630 mμ darf diejenige bei 680 mμ nicht um mehr als 10 % überragen.

c) der Extrakt darf wegen der darin enthaltenen Säuren nicht beliebig konzentriert sein (Faustregel: 4 ml Lösungsmittel pro g Knolle). Die untere Bestimmungsgrenze liegt aus diesem Grund bei etwa 100 γ pro g Knolle.

Zur Orchinolbestimmung maßen wir zunächst die Extinktionen des unbekannten Gemisches bei 630 mμ (E_{630}) und bei 680 mμ (E_{680}). Mit reinen Lösungen der beiden Verbindungen (in beiden Fällen 75 γ/ml) wurden folgende Beziehungen gefunden:

$$E_{630}/E_{680} = 0{,}85 \text{ für Orchinol; } E_{630}/E_{680} = 1{,}37 \text{ für L 87.}$$

Innerhalb unserer Grenzen dürfen wir das Verhältnis E_{630}/E_{680} für die beiden Substanzen konstant setzen und ferner annehmen, daß sich die Extinktionen der beiden Substanzen additiv verhalten. Wir erhielten somit für die Extinktion des Orchinols allein bei 680 mμ (E_0) die Formel

$$E_0 = 2{,}63 \cdot E_{680} - 1{,}92 \cdot E_{630}$$

und durch Einsetzen von E_0 in die Eichkurve für 680 mμ (Abb. 5) den Orchinolgehalt mit einem Fehler von ± 20 %.

3. Orchinolbestimmung nach Chromatographie. Konnten die im letzten Abschnitt genannten Grenzen nicht eingehalten werden, so reinigten wir die Extrakte nach der unter e) beschriebenen Methode und bestimmten das eluierte Orchinol unter Verwendung einer entsprechend behandelten Blindprobe. Der Fehler der Einzelmessungen betrug ± 15 %, die untere Bestimmungsgrenze 100 γ.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, um bei Orchideenknollen, deren Infektabwehr durch Pilzinfektionen aktiviert worden ist, antibiotisch wirksame oder sonstwie interessante Stoffe zu isolieren und zu identifizieren. Ferner werden qualitative und quantitative Methoden für die Bestimmung des Orchinols beschrieben.

Summary

A method is described of isolating and indentifying antibiotic and otherwise interesting substances from orchid tubers, whose infection resistance has been activated by fungal infections. Qualitative and quantitative methods are described for estimating orchinol.

Literaturverzeichnis

Boller, A., H. Corrodi, E. Gäumann, E. Hardegger, H. Kern und N. Winterhalter-Wild, 1957: Über induzierte Abwehrstoffe bei Orchideen I. Helv. chim. Acta **40**, 1062—1066.

Grosser, A., und W. Friedrich, 1947: Eine Testmethode zur Bestimmung von Pilzhemmstoffen. Z. f. Naturforschung **2 b**, 425—427.

Hansen, H. N., and W. C. Snyder, 1947: Gaseous sterilization of biological materials for use as culture media. Phytopathology **37**, 369—371.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Untersuchungen über einige „dothideale" Gattungen

Von

Walter Obrist

Mit 23 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Allgemeiner Teil. 1. Geschichtliches. 2. Entwicklung und Bau der Stromata. 3. Kulturversuche und Nebenfruchtformen. 4. Ökologie. 5. Zytologie. — C. Systematischer Teil. 1. Systematische Stellung und Verwandtschaft der Gattungen. 2. Umgrenzung der Gattungen. 3. *Rhopographus* Fckl. 4. *Scirrhia* Fckl. 5. *Scirrhophragma* Th. et Syd. 6. *Dangeardiella* Sacc. et Syd. 7. *Euryachora* Fckl. 8. *Omphalospora* Th. et Syd. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Die im letzten Jahrhundert aufgestellte Familie der *Dothideaceae* Fckl. umfaßte, ausgehend von *Dothidea* Fr., eine Reihe von Gattungen, deren Arten sich durch ausgedehnte Stromata und darin zu mehreren eingesenkte Fruktifikationsorgane auszeichneten. Zwar wurde diese Verwandtschaftsgruppe von Lindau (1897) noch zur Reihe der *Dothideales* erweitert, aber er erkannte schon ihren sehr uneinheitlichen Charakter. Es war hier den Merkmalen des Stromas, also einer rein vegetativen Phase dieser Pilze, allzu große Beachtung geschenkt worden und dies hatte zu einem künstlichen System geführt. Deshalb wurden in neuerer Zeit viele dieser Gattungen auf Grund von genaueren Untersuchungen neu eingereiht.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die systematische Stellung und Umgrenzung der folgenden „dothidealen" Gattungen zu klären: *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Th. et Syd., *Rhopographus* Fckl., *Dangeardiella* Sacc. et Syd., *Euryachora* Fckl. und *Omphalospora* Th. et Syd. Dazu wurden die Typusarten sowie einige weitere Vertreter dieser Gattungen herangezogen. Zur Untersuchung wurde, wenn möglich, das Typusmaterial, die Herbarbelege der botanischen Sammlung der ETH sowie in verschiedenen Gebieten frisch gesammeltes Material verwendet. Neben der Morphologie und nomen-

klatorischen Fragen wurde auch großer Wert auf Kulturversuche und auf die Ökologie und Zytologie der Pilze gelegt.

Für die tatkräftige Unterstützung dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN, Leiter des Instituts für spezielle Botanik der ETH, recht herzlich danken. Ebenso bin ich Herrn Dr. E. MÜLLER, Konservator der botanischen Sammlung der ETH, für die stete Förderung, sowie den übrigen Mitgliedern der Instituts für manche Anregung zu großem Dank verpflichtet.

B. Allgemeiner Teil

1. Geschichtliches

Die Verwendung des Gattungsnamens *Dothidea* Fr. als Typus einer systematisch höheren Einheit tritt erstmals bei FUCKEL (1869) auf. Seine Familie der *Dothideaceae* umfaßte neben *Dothidea* Fr. und den in dieser Arbeit besprochenen Gattungen auch noch *Phyllachora* Fckl. Zur Charakterisierung der Familie schrieb FUCKEL:

> Typus: *Dothidea.*
> Die Schläuche liegen in nicht weiter gesonderten, von keiner eigenen Haut umgebenen Zellen im Innern des Stromas.

Diese Diagnose und auch die Typuswahl sind eine für die damalige Zeit neuartige Erkenntnis. In dieser Familiencharakterisierung ist schon eine gute Umschreibung für die viel später aufgestellte Gruppe der *Ascoloculares* enthalten. Die von vielen Autoren (z. B. WINTER 1887, SCHROETER 1897) übernommenen Dothideaceen galten aber wie bei FUCKEL noch lange Zeit als Teil der *Sphaeriales.* LINDAU (1897), sowie THEISSEN und SYDOW (1915), erweiterten dann diese Familie zu einer Reihe, den *Dothideales,* die von den letzteren Autoren aber fast ausschließlich auf rein stromatische Merkmale aufgebaut wurde.

Durch die Untersuchungen VON HÖHNELS (1907) wurden aber der Ascomycetensystematik grundlegend neue Wege gewiesen, die seither zu einem allmählichen Aufbau eines natürlichen Systems geführt haben. Er entdeckte bei Arten der Gattung *Wettsteinina* v. HÖHNEL, daß einzelne Asci allmählich in das vegetative Stromagewebe unter Auflösung desselben emporwachsen. Auf diesem Merkmal begründete v. HÖHNEL (1907) die neue Familie der *Pseudosphaeriaceae,* welche er zwischen die Sphaeriaceen und die Dothideaceen stellte.

Spätere Untersuchungen bestätigten die wesentliche Bedeutung der v. HÖHNELschen Entdeckung. Vor allem im Bereiche der *Dothideales* sensu THEISSEN und SYDOW wurden immer mehr Arten gefunden, welche nach dem Bau der Fruchtschicht zu den Pseudosphaeriaceen gestellt werden mußten. Man erkannte, daß nicht nur wie bei *Wettsteinina* einzelne, sondern aus demselben ascogenen Zentrum zugleich mehrere Asci in das Stroma emporwachsen können. Bei der Reife sind dann Konzeptakel vorhanden, Loculi genannt, die ähnlich aussehen können wie die Fruchtkörper typisch sphaerialer Pilze. Das zwischen den Asci vorhandene Stromagewebe wird entweder aufgelöst

oder zu dünnen Fasern, den sog. Pseudoparaphysen oder Paraphysoiden, zusammengedrückt.

Die *Pseudosphaeriaceae* v. Höhnel wurden dann schon von Theissen und Sydow (1918) zur Reihe der *Pseudosphaeriales* erweitert. Die *Dothideales* sensu Theissen und Sydow konnten somit nach neuerer Auffassung nicht mehr aufrecht erhalten werden, da sie sich aus ganz heterogenen Elementen zusammensetzten.

Da auch noch andere Reihen *(Myriangiales, Dothiorales)* denselben Bau der Fruchtschicht zeigen, wurde von Nannfeldt (1932) ein diese Reihen umfassender Stamm, die *Ascoloculares*, aufgestellt. Erst in neuester Zeit hat sich durch die Untersuchungen von Müller und v. Arx (1950) und Luttrell (1951) gezeigt, daß diese Gruppe noch durch ein anderes wesentliches Merkmal der Sexualphase charakterisiert ist. Die Asci sind nämlich bei allen ascolocularen Pilzen fast durchgehend doppelwandig, besitzen keinen Apikalapparat und die Sporen werden durch Aufreißen der äußeren und anschließendes Emporschnellen der inneren Wand entleert. Dieser Ascustyp wurde von Luttrell „bitunicat" genannt.

2. Entwicklung und Bau der Stromata

Der Bau der Stromata und die Anordnung der Loculi spielte seit jeher eine wesentliche Rolle in der Ascomycetensystematik; es wurden auf Stromamerkmalen Gattungen, Familien und sogar Reihen begründet. Damit gelangte man aber immer mehr zu einem künstlichen System, da die Merkmale der Fruchtschicht dabei häufig vernachlässigt wurden. Die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse lassen sich aber nicht richtig erkennen, sofern nicht auch Bau und Entwicklung der sexuell entstandenen Partien (ascogene Hyphen und Fruchtschicht) Berücksichtigung finden. Dies wurde zu Beginn unseres Jahrhunderts vor allem von v. Höhnel (1907, 1918) erkannt und es wurde seither von vielen Autoren am Aufbau eines neuen, natürlichen Systems der Ascomyceten gearbeitet.

Von Höhnel (1918, 1920) hat mit Recht darauf hingewiesen, daß ähnliche Stromabildungen, welche er als „Anpassungsformen" bezeichnete, in verschiedenen Entwicklungsreihen auftreten können. Es handelt sich hier um Konvergenzerscheinungen phylogenetisch voneinander entfernter Typen.

Nun sind aber in neuerer Zeit so viele ascoloculare, stromatische Arten beschrieben worden, daß es auch trotz moderner Untersuchungsmethoden oft schwer fällt, solche Pilze eindeutig zu klassifizieren. Deshalb wurden in neuester Zeit bei Pilzgruppen, welche in der sexuellen Entwicklung weitgehend übereinstimmen, mit gutem Erfolg auch stromatische Merkmale zur systematischen Einordnung herangezogen (z. B. Loeffler 1957).

Bei den in dieser Arbeit besprochenen Arten zeigten sich bestimmte Erscheinungsformen, sowohl was die Entwicklung als auch den Bau der Stromata anbelangt. Bei der Stromaentwicklung können zwei prinzipielle Typen unterschieden werden: Beim einen Typus beginnt sie im Spätsommer oder Herbst und dauert den ganzen Winter über, während welcher Zeit auch die

Sexualvorgänge und die Loculibildung statfinden. Erst im darauffolgenden Frühjahr sind Asci und reife Sporen vorhanden. Dieser Typ ist im speziellen Teil bei *Rhopographus filicinus* (Fr.) Fckl. genauer beschrieben; es gehören ihm außer der genannten Art noch die drei *Scirrhia*-Arten sowie *Scirrhophragma osmundae* (P. et C.) nov. comb., *Eurychora sedi* (Fr.) Fckl. und die beiden *Omphalospora*-Arten an. Der zweite Typ hat eine raschere Entwicklung; diese beginnt im Mai und erreicht die Sporenreife im Juli—August, fällt also in die warme Jahreszeit. Zu diesem Typ sind die beiden *Dangeardiella*-Arten zu zählen.

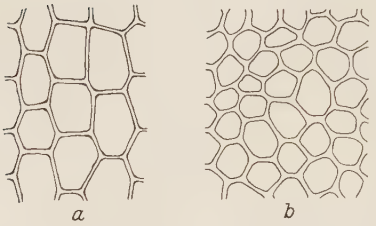


Abb. 1. Zellwände im Innern der Stromata von a) *Rhopographus filicinus*, b) *Euryachora sedi*. Vergr. 650×

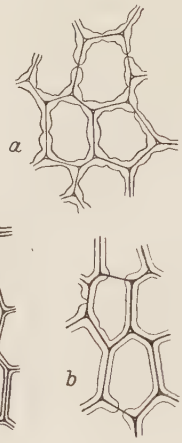


Abb. 2. Zellwände im Innern junger Stromata von a) *Dothidea sambuci*, b) *Dothidea puccinioides*, c) *Dothidea ribesia*. Vergr. 650× (nach LOEFFLER, 1957)

Im Bau der Stromata sind charakteristische Ausbildungsformen festzustellen. Bei den Gattungen *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Th. et Syd. und *Rhopographus* Fckl. (Abb. 1 a) findet man ein senkrecht parallelhyphiges Pseudoparenchym mit polygonalen, in der Mitte oft rechteckigen, gestreckten Zellen, deren Wände im Stromainnern nur 1 μ dick sind. Bei *Euryachora* Fckl. und *Omphalospora* Th. et Syd. (Abb. 1 b) sind die Zellen polygonal, dickwandig (1,5 bis 2 μ) und ohne Streckung in irgendeiner Richtung.

Die Zellwände dieser beiden Typen sind prinzipiell gleichartig aus drei Schichten aufgebaut: Eine dicke, homogen erscheinende, schwach gefärbte Mittelschicht wird von zwei dünnen Randschichten begrenzt, welche durch Pigmenteinlagerung dunkelbraun bis schwarz gefärbt und unregelmäßig dick sind. Besonders in den Ecken sind diese Schichten stärker verdickt und sehr dunkel.

Dangeardiella kann nicht als echt stromatisch gelten, da bei dieser Gattung kein eigentliches Binnenstroma, sondern typische Fruchtkörperwände vorhanden sind; die Stromata bestehen demnach nur aus einigen verwachsenen Fruchtkörpern.

Die zum Vergleich nach LOEFFLER (1957) wiedergegebenen Stromaformen von *Dothidea* Fr. (Abb. 2) unterscheiden sich von den oben erwähnten Stromatypen vor allem dadurch, daß sie dünne, dunkel gefärbte Mittellamellen und zum Teil Tüpfel besitzen, was bei unseren Arten nicht beobachtet werden konnte. Es handelt sich also um zwei verschiedenartige Wandtypen.

3. Kulturversuche und Nebenfruchtformen

a) Temperaturabhängigkeit des Wachstums

Von mehreren Arten wurden nach der von Loeffler (1957) beschriebenen Methode einige Stämme auf Malzagar isoliert und bei verschiedenen Temperaturen kultiviert. Die Temperaturabhängigkeit wurde durch Messung des täglichen Myzelzuwachses an Pilzkolonien auf dünnen Malzagarschichten in Petrischalen festgestellt. Das Ergebnis einiger dieser Versuche ist in den Abb. 3 und 4 dargestellt.

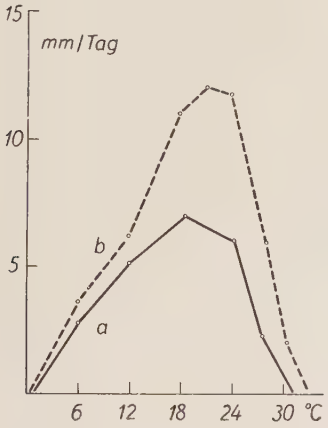


Abb. 3. Temperaturabhängigkeit des Myzelwachstums von
a) *Scirrhia rimosa*,
b) *Scirrhia aspidiorum*.
Ordinate: Durchschnittlicher Tageszuwachs von Pilzkolonien.
Abszisse: Temperatur

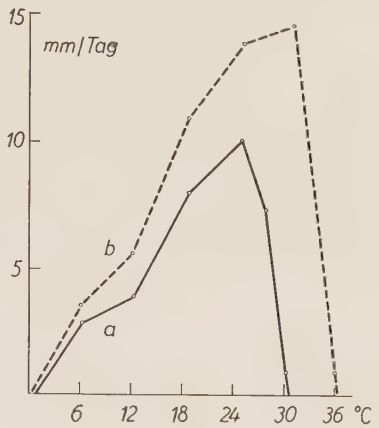


Abb. 4. Temperaturabhängigkeit des Myzelwachstums von
a) *Rhopographus filicinus*,
b) *Scirrhophragma regalis*.
Ordinate und Abszisse wie in Abb. 3

Die beiden *Scirrhia*-Arten verhalten sich ähnlich und weisen ein Optimum von 18 bis 24 °C sowie übereinstimmende Minima und Maxima auf. Auch *Rhopographus filicinus* (Fr.) Fckl. zeigt eine prinzipiell gleiche Kurve. Hingegen hat *Scirrhophragma osmundae* (P. et C.) nov. comb. das Optimum bei 27 bis 30 °C und ein Maximum von über 36 °C.

b) Zelluloseabbau

Alle untersuchten Arten legen ihre Stromata im Innern der besiedelten Substrate an. Es war daher auch die Frage zu prüfen, ob die Pilze imstande sind, Zellulose abzubauen. Die Stämme wurden zu diesem Zwecke in Röhrchen kultiviert, in welchen sich sterilisierte Knopsche Nährlösung und daraus herausragende Streifen von Filterpapier (als Kohlenstoffquelle) befanden. In 1 cm Höhe über dem Flüssigkeitsniveau auf die Papierstreifen überimpfte Myzelklümpchen wuchsen anfänglich zu einem lockeren Filz von Luftmyzel

heran, um aber sehr bald im Wachstum stillezustehen. Die nach einigen Wochen geernteten Kulturen zeigten nach Ablösung der Myzelien nicht den geringsten Abbau von Zellulose an.

c) Wachstum auf sterilisiertem Pflanzenmaterial

Da die Stämme auf den verschiedensten Nährböden höchstens zur Bildung von Neben-, aber nie von Hauptfruchtformen veranlaßt werden konnten, kultivierte ich sie auch auf sterilisiertem Pflanzenmaterial. Hierzu verwendete ich neben den natürlichen Wirtspflanzen auch noch Stengel der Lupinenart *Lupinus polyphyllus* hort.; sterilisiert wurde das Material in parallelen Versuchen im Autoklaven, im Dampftopf und ohne Erhitzen mit Propylenoxyd (Methode nach HANSEN und SNYDER, 1947). Auf dieses Material wurden die Stämme von *Scirrhia rimosa* Fckl., *Scirrhia aspidiorum* (Lib.) Bub., *Rhopographus filicinus* (Fr.) Fckl. und *Scirrhophragma osmundae* (P. et C.) nov. comb. abgeimpft und in zwei parallelen Versuchsreihen bei 5 °C und bei Zimmertemperatur inkubiert. Bei Verwendung von abgestorbenem Pflanzenmaterial konnte kein oder nur geringes Wachstum festgestellt werden. Hingegen wuchsen alle Stämme sehr gut auf frischem Material. Die Stämme von *Scirrhophragma osmundae* (P. et C.) nov. comb. wuchsen weitaus am raschesten, und nach zwanzig Tagen konnte bei diesen auch schon Konidienbildung festgestellt werden. Alle übrigen Stämme produzierten nach etwa fünfzig Tagen Konidien.

Einer der vier Stämme von *Scirrhia aspidiorum* (ETH Nr. 2755), der erst wenige Wochen vor dem Versuch isoliert worden war, schritt auf den Stengeln von *Dryopteris filix-mas* und *Athyrium filix-femina* nach zehn bis zwanzig Tagen zur Anlage von Stromata. Obwohl die Rinde der Stengelstücke durch die Sterilisation vielfach aufgerissen war, entwickelten sich die Stromata im Innern des Rindensklerenchyms bis in kleinste Details in derselben Weise, wie es der Pilz an natürlichen Standorten auf abgestorbenen Blattstielen tut. Im Verlaufe mehrerer Monate bildeten sich in dem Material, welches bei 5 °C inkubiert worden war, Loculi. Auch dieses Ergebnis entspricht den natürlichen Verhältnissen (tiefe Temperatur zur Auslösung der Bildung von Loculi und lange Dauer ihrer Entwicklung). Es zeigt sich also, daß die Art der Stromabildung mindestens zum Teil nach einem genetisch fixierten Schema verläuft und nicht eine bloße Anpassung an das Substrat darstellt.

d) Bildung von Nebenfruchtformen

Die Stämme wurden in periodischen Zeitabständen auf frisch hergestellten und sterilisierten Malzagar (2 % Malzextrakt, 2 % Agar-Agar) abgeimpft. Eine Parallelreihe aller Stämme wurde auch im Freien an einem vor Niederschlag und direkter Sonnenbestrahlung geschützten Ort überwintert. Diese Kulturen wurden in verschiedenem Alter auf die Bildung von Nebenfruchtformen untersucht, ebenso die Kulturen auf sterilisiertem Pflanzenmate-

rial. Es ergaben sich dabei die in der folgenden Tabelle wiedergegebenen Verhältnisse:

Untersuchte Art	Konidienbildung in Kultur	Natürliche Nebenfruchtform
Scirrhia rimosa	*Acremonium*-Typus	*Hadrotrichum phragmitis*
Scirrhia aspidiorum	*Acremonium*-Typus	—
Scirrhia osmundicola	fehlend	—
Scirrhophragma osmundae	*Acremonium*-Typus	—
Rhopographus filicinus	*Acremonium*-Typus	—
Rhopographus arundinaceus	*Trichosporium*-Typus	*Papularia sphaerosperma*
Dangeardiella macrospora	fehlend	—
Dangeardiella fusiforma	fehlend	—

Die Nebenfruchtformen der Typusarten von *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Th. et Syd. und *Rhopographus* Fckl. zeichnen sich aus durch anfangs kugelige, später ovale, hyaline Konidien, die am Ende kurzer Seitenhyphen des Luftmyzels abgeschnürt werden. Diese Ausbildungsform (Abb. 5) läßt sich am besten mit der Hyphomycetengattung *Acremonium* Link vergleichen. Derselbe Typ tritt auch in den Kulturen von *Scirrhia aspidiorum* auf. Die einzige, bisher experimentell sichergestellte, natürlich vorkommende Nebenfruchtform (*Hadrotrichum phragmitis* Fckl.) ist nahe mit dem *Acremonium*-Typus verwandt.

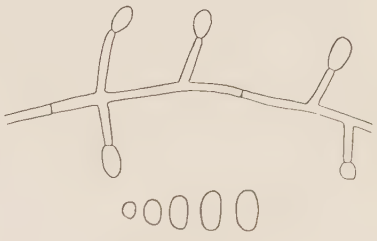


Abb. 5. Konidienbildung in einer Kultur von *Scirrhia rimosa*. Vergr. 500×

4. Ökologie

Daß verschiedene ökologische Faktoren (vor allem das Substrat) die Morphologie mancher Pilze wesentlich beeinflussen, steht heute fest. Anderseits haben sich aber auch sehr viele Arten und Gattungen im Laufe der Zeit so stark spezialisiert, daß ihre Ansprüche an die Umweltsfaktoren sehr spezifisch geworden sind. Dies gilt nicht nur für parasitische, sondern auch für saprophytische Pilze, was z. B. von Loeffler (1957) für die Gattung *Dothidea* Fr. nachgewiesen wurde.

Alle in dieser Arbeit untersuchten Pilze (mit Ausnahme der *Euryachora*- und *Omphalospora*-Arten) kommen nur an ausgesprochen feuchten und sehr schattigen Stellen vor. Sie sind in dichten Wäldern und Gebüschen oder an steilen, nordexponierten Hängen zu finden und auch an diesen Stellen meist nur am Boden, oft noch von absterbendem Pflanzenmaterial überschichtet. So kommt z. B. *Rhopographus filicinus* in ausgedehnten Beständen von *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn nur an lokal ganz beschränkten Stellen vor.

Die meisten Arten benötigen eine kalte Winterperiode zur Stromaentwicklung und zur Auslösung der Sexualphasen. Diese Verhältnisse spiegeln

sich auch in der geographischen Verbreitung wieder, welche sich auf die gemäßigte Zone der Nordhemisphäre und die Gebirge der Subtropen (*Rhopographus filicinus* wurde aus dem Himalaya nachgewiesen) beschränkt.

Das Wirtsspektrum der Arten ist klein. Einige Arten sind nur auf einen Wirt beschränkt (z. B. *Scirrhia rimosa und Rhopographus filicinus*), andere besiedeln mehrere Arten, welche dann aber nahe miteinander verwandt sind (z. B. *Scirrhia aspidiorum*). Es liegt also eine ziemlich weitgehende Spezialisierung vor. Der unten beschriebene Infektionsversuch liefert dafür einen experimentellen Nachweis.

Die morphologische Variabilität in Abhängigkeit vom Substrat ist bei den mehrere Wirte infizierenden Arten sehr gering. So bildet z. B. *Scirrhia aspidiorum* auf *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn und *Matteuccia Struthiopteris* (L.) Todaro (= *Struthiopteris germanica* Willd.) etwas kleinere Stromata und Loculi als auf den übrigen Substraten. Auch ist keine standortsbedingte Variabilität festzustellen. Stämme von *Rhopographus filicinus*, welche im Himalaya, im Tessin und in der Umgebung Zürichs gesammelt worden waren, zeigten morphologisch und in Kultur keine Unterschiede.

Die Wirtspflanzen der stromatisch am stärksten ausgebildeten Arten zeigen eine auffallende Übereinstimmung: es sind alles Pflanzen, welche unter der Stengel-Epidermis starke Sklerenchymfasern besitzen und große Silikateinlagerungen aufweisen (Farne, Gräser).

Die Stromata entwickeln sich unter der Epidermis oder in der Sklerenchymschicht der Stengel, also mitten in einem zähfaserigen Gewebe. Vergleicht man nun die Längsschnitte durch die Stromata von zwei gattungsverschiedenen Pilzen, die auf demselben Substrat vorkommen (*Rhopographus filicinus* und *Scirrhia aspidiorum* auf *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Scirrhia osmundicola* und *Scirrhophragma osmundae* auf *Osmunda regalis* (L.), so fällt die weitgehende Ähnlichkeit sofort auf (eng gereihte, oft flachgedrückte Loculi zu mehreren in einer Längsreihe). Hingegen sind die Querschnitte in diesen Fällen sehr verschieden und lassen sich in mehreren Merkmalen gut unterscheiden. Die Ausbildungsweise des Stromas in der Längsrichtung wird demnach in viel stärkerem Maße von den zähen Fasern des Substrates bedingt, als es in der Querrichtung der Fall ist. Es sind also nicht alle Merkmale solcher Stromata rein adaptiver Natur, wie es VON HÖHNEL (1920) annahm.

Die untersuchten Arten kommen in der Natur saprophytisch auf abgestorbenem Pflanzenmaterial vor. Aber es ist doch auffallend, daß sie auf bestimmte Wirtspflanzen spezialisiert sind. Mit zwei Arten (*Rhopographus filicinus* und *Scirrhia aspidiorum*) wurde ein Infektionsversuch unternommen. In einer abgeschlossenen Kabine im Gewächshause wurden vom Frühling bis zum Herbst einige Exemplare von *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Athyrium filix-femina* (L.) Roth und *Dryopteris dilatata* Hoffm. bei hoher Luftfeuchtigkeit kultiviert. Im April wurde in geringer Höhe über den Pflanzen auf Drahtgittern frisch gesammeltes, sporenreifes Material der beiden genannten Pilzarten ausgebreitet. Den ganzen Sommer über zeigten sich keinerlei Stromabildungen, und zwar auch dann nicht, wenn die Pflanzen leicht verwundet wurden. Hingegen entwickelten sich Stromata innerhalb 14 Tagen bei ein-

zelnen Blättern, welche abgeschnitten worden waren. Ebenfalls trat Stromabildung nach dem natürlichen Absterben der Blätter im Herbst auf. *Scirrhia aspidiorum* befiel alle drei Wirtspflanzen, *Rhopographus filicinus* nur *Pteridium aquilinum*, was den Verhältnissen in der Natur entspricht. Diese Arten vermögen demnach die lebenden Wirtspflanzen wohl zu besiedeln, nicht aber auch krank zu machen, da keinerlei Symptome beobachtet werden konnten. Die Weiterentwicklung (Stromabildung) ist erst auf abgestorbenen oder absterbenden Pflanzenteilen möglich.

5. Zytologie

Bisher liegen über die untersuchten Arten keine zytologischen Arbeiten vor. Dieser Mangel könnte nur durch umfangreiche Untersuchungen behoben werden. Die Typusarten dieser Gattungen entwickeln sich mitten in zähfaserigen Sklerenchymschichten von Farnen und Gräsern und bieten deshalb beim Schneiden erhebliche methodische Schwierigkeiten. Einzig *Rhopographus filicinus* erwies sich als geeigneter, da die Art in unserem Gebiet häufig vorkommt, sich direkt unter der Epidermis entwickelt, sehr ausgedehnte flache Stromata bildet und deshalb in größeren Stromakomplexen vom unterliegenden Wirtsgewebe abgetrennt werden kann. Ich fixierte zu verschiedenen Zeiten im Laufe der Monate Oktober bis Januar frisch gesammeltes Material. Fixierung, Einbettung und Färbung erfolgte nach der von Hess und Müller (1951) angegebenen Methode. Bei den Mitte Oktober und November fixierten Stromata kann der Beginn der Loculibildung verfolgt werden. An regelmäßig in der unteren Stromapartie verteilten Stellen verschwindet die Wandfärbung und die Zellen werden in einem sich allmählich vergrößernden Umkreis hyalin, ähnlich wie dies von *Dothidea*-Arten beschrieben wurde (Luttrell 1951, Hess und Müller 1951). In diesen hyalinzelligen Zentren vollziehen sich offenbar anfangs Dezember die noch unbekannten Sexualvorgänge, denn das Mitte Dezember fixierte Material zeigte schon einkernige Asci (Abb. 6). Hier hat sich bereits ein basales ascogenes Hyphengeflecht entwickelt, aus welchem die jungen Asci emporwachsen. Das darüberliegende Stromagewebe wird zum Teil aufgelöst, zum Teil bleibt es auch noch zwischen den Asci in Form dünner Fasern bestehen. Nun wachsen die Asci heran und deren Kern teilt sich in drei Teilungsschritten in acht Kerne. Dieser Reifungsprozeß geht langsam und parallel mit der Streckung des Stromas vor sich und erst im April sind die Asci voll ausgewachsen und enthalten acht reife septierte Sporen. Im Gegensatz zu *Dothidea* Fr. ist aber das faserige Gewebe zwischen den Asci im Reifezustand nicht vollständig resorbiert. Die reifen Loculi enthalten noch die Reste dieses Stromagewebes in Form dünner septierter Fasern, den sog. Paraphysoiden.

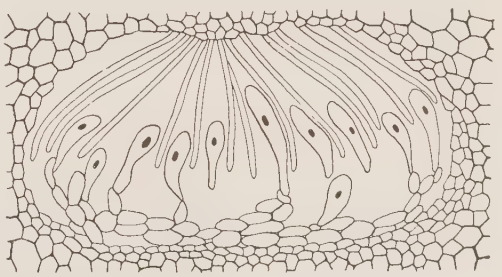


Abb. 6. Junge Asci (einkernig) in einem Loculus von *Rhopographus filicinus*. Vergr. 750×

Diese Untersuchungen zeigen, daß sich der Pilz ähnlich entwickelt wie *Dothidea*- und *Mycosphaerella*-Arten. Die Dauer der Entwicklung und die Art der Auflösung des Stromas ist zwar bei den genannten Typen verschieden; es handelt sich dabei aber um mehr graduelle und quantitative als eindeutig qualitative Unterschiede.

C. Systematischer Teil

1. Systematische Stellung und Verwandtschaft der Gattungen

Die Gliederung der *Ascoloculares* ist heute noch nicht endgültig. Sie bereitet vor allem deswegen Schwierigkeiten, weil bei dieser Pilzgruppe noch relativ wenige Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Fruchtschicht vorliegen. Da aber diese Merkmale heute als maßgeblich betrachtet werden, muß die Systematik darauf aufbauen.

Unter den aus neuester Zeit vorliegenden Gruppierungsvorschlägen sind vor allem diejenigen von MÜLLER und v. ARX (1950) und LUTTRELL (1951, 1955) zu erwähnen. Die erstgenannten Autoren begründen ihre Familien vor allem auf gut erkennbaren Entwicklungsreihen, während LUTTRELL von bestimmten Entwicklungstypen ausgeht.

LOEFFLER (1957) hat die Gattung *Dothidea* Fr. neu umschrieben und festgestellt, daß die früheren Dothideaceen-Gattungen nicht sehr nahe damit verwandt sind. Seine Vermutung, daß *Scirrhia* Fckl. erheblich vom *Dothidea*-Typus abweiche, hat sich nach meinen Untersuchungen nicht nur für *Scirrhia*, sondern auch für die übrigen Gattungen bestätigt. Deren systematische Stellung muß deshalb neu diskutiert werden.

Ein Vergleich der bearbeiteten Gattungen zeigt, daß sie in drei klar getrennte Gruppen zu gliedern sind. *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Th. et Syd. und *Rhopographus* Fckl. bilden nach der Morphologie der Stromata und Loculi, den Nebenfruchtformen, der Ökologie und Zytologie eine weitgehend übereinstimmende Gruppe. Ebenso gehören *Euryachora* Fckl. und *Omphalospora* Th. et Syd. zusammen, während *Dangeardiella* Sacc. wieder nach einem anderen Typ gebaut ist.

Neben *Dothidea* ist auch noch der *Mycosphaerella*-Typ (v. ARX 1949, BARR 1958) mit unseren Formen verwandt. *Euryachora* und *Omphalospora* stimmen damit in vielen Merkmalen (Sporen, Loculi, Stromabau) gut überein und sind sicher nahe verwandt. Die Gruppe mit *Scirrhia* besitzt sowohl Ähnlichkeiten mit dem *Dothidea*- als auch mit dem *Mycosphaerella*-Typ; sie stellt aber einen in sich geschlossenen, selbständigen Typ dar, welcher nicht einem der genannten Typen untergeordnet werden kann. Nach den heutigen Kenntnissen, die vor allem bei der sexuellen Phase noch unvollständig sind, erscheint es mir aber noch verfrüht, eine endgültige Familieneinteilung vorzunehmen.

Dangeardiella unterscheidet sich von allen übrigen Gattungen dadurch, daß sie kein eigentliches Stroma besitzt. Neben einzelnen kommen hier höch-

stens zwei bis drei miteinander verwachsene Fruchtkörper vor. Auch in den übrigen Merkmalen unterscheidet sich die Gattung sehr stark und ihre Einordnung erscheint noch unklar. Sicher gehört sie aber weder zu den *Dothideaceae* (sensu Loeffler, 1957) noch zu den Mycosphaerellaceen, wahrscheinlich eher in die Nähe von *Lophiostoma* Ces. et de Not.

2. Umgrenzung der Gattungen

Die generische Verschiedenheit der untersuchten Typusarten ist durch viele Merkmale klargestellt und nicht umstritten. Hingegen ist die Einordnung der übrigen Arten nicht immer richtig. Auf Grund der Typusarten und der anderen in unserem Gebiete vorkommenden Arten wurde deshalb versucht, klare Gattungseinteilungen und -Umschreibungen vorzunehmen.

3. *Rhopographus* Fckl.

Symb. myc. 219 (1869)

Typus: *Rhopographus filicinus* (Fr.) Fckl.

Stromata lineal, lanzettlich oder zu größeren Flecken zusammenfließend, einzeln oder herdenweise, braun bis schwarz, von der Epidermis oder mehreren Substratzellschichten bedeckt, diese aufwölbend und über den Loculi spaltartig aufreißend, aus gleichmäßigem Pseudoparenchym aufgebaut. Stromazellen polygonal bis rechteckig, braun bis schwarz, außen sehr dunkel, gegen innen heller und dünnwandig. Die umliegenden Zellschichten werden von dunkelbraunen Pilzhyphen mehr oder weniger stark durchdrungen.

Loculi kugelig oder niedergedrückt-kugelig, oft in der Längsrichtung flachgedrückt, in einer oder mehreren Längsreihen eng gelagert angeordnet, ohne eigene Wand. Fruchtschicht hyalin, mit Paraphysoiden, die sich bei der Reife auflösen.

Asci oblong-keulig oder zylindrisch, oben abgerundet, unten verschmälert, doppelwandig, innen gerade, außen nach innen geneigt stehend, achtsporig. Sporen länglich-spindelförmig, vier- bis mehrzellig, an den Septen eingeschnürt, hyalin oder braun gefärbt.

Von der Typuswahl dieser sehr charakteristischen Gattung kann dasselbe gesagt werden wie von *Scirrhia* (vgl. S. 370). Neben den beiden hier besprochenen Arten sind noch mehrere andere aus den Tropen beschrieben. Eine genaue Untersuchung dieser Arten würde aber höchstwahrscheinlich zeigen, daß einige davon stark von der Typusart abweichen und deshalb anders eingereiht werden müssen.

Rhopographus filicinus (Fr.) Fckl.

Synonyme:

Sphaeria filicina Fr. — Syst. Myc. **2**, 427 (1823).
Dothidea filicina Fr. — Summa Veg. Scand. 386 (1849).
Rhopographus filicinus (Fr.) Fckl. — Symb. myc. 219 (1869).
Hysterium aquilinum Schum. — Enum. Plant. Saell. **3**, 152 (1801).
Sphaeria Pteridis Sowerby — Engl. fungi Taf. 394 (1809).
Rhopographus Pteridis (Sow.) Winter — Rabh. Kryptogamenfl. **1** (2), 915 (1887).

Nährsubstrat: Abgestorbene Blattstiele von *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

Untersuchtes Material: LIBERT, Plant. Crypt. Ard., Fasc. 3, Nr. 243 (sub *Sphaeria filicina* Fr.), 1834;
RABENHORST-WINTER, Fungi europaei Nr. 2672 (sub *Rhopographis Pteridis* Wint.), bei Königstein, Sachsen, 28. 4. 1875, leg. W. KRIEGER;
KUNZE, Fungi selecti exs. Nr. 583 (sub *Rhopographus Pteridis* Wint.), bei Zürich, März 1880, leg. G. WINTER;
DE THÜMEN, Mycotheca universalis Nr. 2176, Zürich, März 1880, leg. G. WINTER;
PETRAK, Mycotheca generalis Nr. 485, Ringkogel bei Hartberg, Steiermark, 6. 1941, leg. J. BAUMGARTNER;
bei Contra, Kt. Tessin, 14. 4. 1945, leg. A. VOLKART; Val Resa ob Locarno, Kt. Tessin, 12. 4. 1954, leg. H. KERN; ob Rovio, Kt. Tessin, 19. 5. 1956; ob Minusio, Kt. Tessin, 22. 5. 1956, leg. E. MÜLLER und H. KERN (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2641); Hindhead, Sussex, England, 20. 6. 1956, leg. H. KERN; Nainital, Uttar Pradesh, Indien, 5. 5. 1957, leg. E. MÜLLER (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2752); Hagenholz bei Wallisellen, Kt. Zürich, 11. 4. 1957 (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2753), 23. 10. 1957, 27. 11. 1957, 10. 2. 1958; bei Brione ob Locarno, Kt. Tessin, 23. 7. 1958.

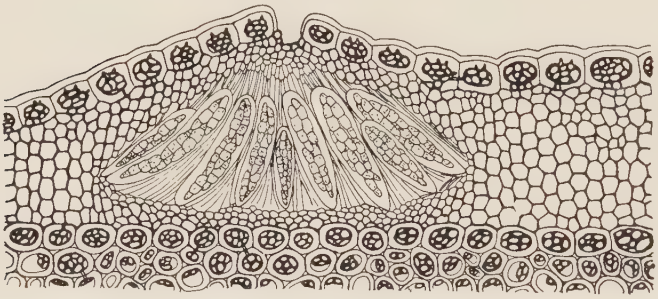


Abb. 7. Querschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Rhopographus filicinus*. Vergr. 250×

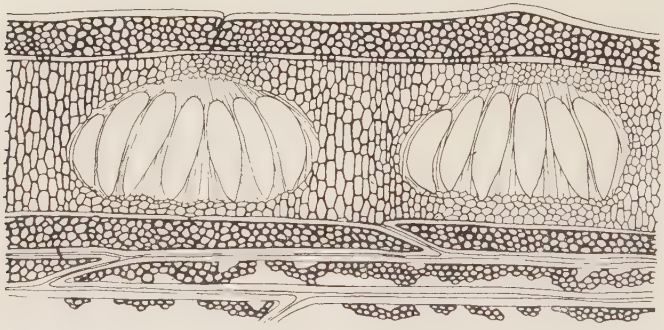


Abb. 8. Längsschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Rhopographus filicinus*. Vergr. 250×

Stromata lineal oder lanzettlich, 0,5 bis 3 cm lang, 1 bis 3 mm breit, herdenweise, oft zu größeren Flächen vereinigt, schwach gewölbt, glatt, glänzend schwarz, unmittelbar unter der Epidermis gelagert, aus gleichmäßig senkrecht- parallelhyphigem Pseudoparenchym aufgebaut, die Epidermis leicht aufwölbend. Stromazellen im Querschnitt quadratisch, rechteckig oder polygonal, in der Stromamitte gestreckt rechteckig, 6 bis 10 μ groß, braun gefärbt, dünnwandig. Epidermis von stark dunkelbraun gefärbten, rundlichen Pilzzellen durchwachsen, über den Loculi aufgewölbt und reif längsgespalten. Basislinie des Stromas geradlinig, Hyphen in drei bis vier darunterliegende Zellschichten des Wirtsgewebes eindringend.

Loculi niedergedrückt-halbkugelig, 120 bis 180 μ lang, 120 bis 200 μ breit, 70 bis 100 μ hoch, in mehreren Längsreihen, nahe beieinander, ohne eigene Wand, unten und oben von einigen Zellschichten des Stromas umgeben. Bei der Reife wird das Stroma durch das Emporwachsen der Fruchtschicht gestreckt und bricht über den Loculi in einem länglichen Spalt auf. Fruchtschicht hyalin, mit Baumwollblau färbbar, mit von unten heraufwachsenden, nicht sehr vielen Asci und dünnen, zellig-fädigen Paraphysoiden, die bei der Reife noch nicht aufgelöst sind.

Asci oblong-keulig, ungestielt, 55 bis 90 μ lang, 15 bis 25 μ dick, im Zentrum gerade, außen einwärts geneigt, derb- und doppelwandig, achtsporig. Sporen zweireihig, spindelförmig, meist leicht gekrümmt, 30 bis 40 μ lang, 6 bis 9 μ dick, vier- bis achtzellig, gelbbraun, an der mittleren Septe ziemlich stark, an den übrigen nur schwach eingeschnürt, an beiden Enden abgerundet und mit kurz zylindrischen, 5 bis 7 μ langen, schleimigen, rasch vergänglichen Anhängseln.

Verbreitung: Europa, Nordamerika, Asien (Himalaya).

Nebenfruchtform in Kultur: *Acremonium*-Typus. Aus der Natur werden verschiedene (z. B. *Leptostroma*-) Arten als zugehörig bezeichnet, sind aber nicht experimentell nachgewiesen.

Die durch ihr ausgedehntes, glänzend schwarzes Stroma gut kenntliche Art durchläuft in unserer Gegend folgenden Entwicklungsgang: Im August und September durchdringen Pilzhyphen die Lumina der äußersten Zellschichten von *Pteridium*-Stengeln, welche zu dieser Zeit schon braun und im Absterben begriffen sind. Dagegen können die Hyphen die Zellwände der dickwandigen Sklerenchym-Fasern durchstoßen. Auch die Epidermis wird von dunkelbraun gefärbten Hyphen erfüllt und die befallenen Stengelpartien erscheinen dann glänzend schwarz. Darauf beginnt sich unter der Epidermis ein pseudoparenchymatisches interzelluläres Stroma zu bilden, das beim Heranwachsen die Epidermis emporhebt, vorerst ohne sie aufzureißen. Im Oktober und November beginnt die Loculibildung. An regelmäßig im Stroma verteilten Stellen verschwindet die Wandfärbung wieder und die Zellen werden hyalin. In diesen Zentren vollziehen sich die Sexualvorgänge und im Dezember und Januar sind junge, einkernige Asci, im April reife Sporen vorhanden. Daß die Ascosporen auch nach längerer Zeit keimfähig bleiben, konnte in folgender Weise nachgewiesen werden: ein Jahr alte Sporen keimten und wuchsen auf Malzagar-Nährböden gleich rasch wie Kulturen von jüngeren Ascosporen.

Müller und v. Arx (1950) nehmen an, die einzelnen Stromata seien in großer Zahl reihenweise miteinander verwachsen. Der Pilz seit mit *Leptosphaeria*-Arten verwandt, bei denen schon die Tendenz zu erkennen ist, Fruchtkörper miteinander verwachsen zu lassen (z. B. *Leptosphaeria personata* Niessl). Munk (1957) kann sich dieser Ansicht nicht anschließen, da die Loculi im Stroma sekundär seien, der Pilz demnach dem *Dothidea*-Entwicklungstypus folge. Die eigenen Untersuchungen bestätigen die Ansicht von Munk.

Die Angabe von THEISSEN und SYDOW (1915), die Anhängsel der Ascosporen seien als kurze Endzellen anzusehen, trifft nicht zu. Vielmehr handelt es sich um schleimige Anhängsel, denn diese verschwinden bald nach der Sporenreife. Die Septierung der Sporen wird in der Literatur meist mit drei (selten fünf) angegeben (z. B. WINTER 1887). Bei gut entwickelten Pilzen sind aber meist einzelne, manchmal alle der ursprünglich vier Sporenzellen noch sekundär septiert, so daß bis sieben Septen vorkommen.

Als Verbreitungsgebiet des Pilzes ist die gemäßigte Zone der nördlichen Hemisphäre bekannt. Obwohl der Adlerfarn als einzige Wirtspflanze ein weitverbreiteter Kosmopolit ist, wurde die sehr auffällige Art noch nie aus tropischen Klimaten oder aus der südlichen Hemisphäre beschrieben; in entsprechenden Regionen ist der Pilz auf Gebirgsgegenden mit gemäßigtem Klima beschränkt. Die drei in Kultur genommenen Stämme von verschiedenster Herkunft verhielten sich praktisch gleich. Die morphologische und physiologische Variabilität des Pilzes ist demnach sehr gering.

V. HÖHNEL (1920) stellt *Leptosphaeria arundinacea* (Sow. ex Fr.) Sacc. auf Grund ihres Stromabaues zur Gattung *Rhopographus*. Diese Art weicht aber in manchen Merkmalen des Stromabaues, der Sporen und auch nach der in Kultur gebildeten Nebenfruchtform wesentlich vom *Rhopographus*-Typus ab und gehört demnach nicht hierher.

4. *Scirrhia* Fckl.

Symb. myc. 220 (1869)

Synonym:

Scirrhodothis Theissen und Sydow — Ann. myc. **13**, 415 (1915).

Typus: *Scirrhia rimosa* (Alb. et Schw. ex Fries) Fckl.

Stromata lineal-strichförmig, lanzettlich oder spindelig, einzeln oder herdenweise, grau bis schwarz, unter der Epidermis oder von mehreren Zellschichten bedeckt, diese aufwölbend und über den Loculi in Längsspalten aufreißend, aus braunem Pseudoparenchym aufgebaut. Stromazellen polygonal bis rechteckig, außen sehr dunkel, gegen innen heller, dünnwandig. Dunkelbraune, dickwandige Pilzhyphen durchdringen das umliegende Substratgewebe.

Loculi kugelig oder ellipsoidisch, oft flachgedrückt, in Längsreihen eng gelagert angeordnet, ohne eigene Wand. Fruchtschicht hyalin, mit mehr oder weniger dicht stehenden Asci und dünnfädigen Paraphysoiden, die bei der Reife aufgelöst werden.

Asci zylindrisch oder oblong-keulig, oben abgerundet, unten verschmälert, doppelwandig, innen gerade, außen gebogen stehend, achtsporig. Sporen länglich oder spindelförmig, zweizellig, eingeschnürt, hyalin.

Die von FUCKEL (1869) zum Gattungstypus erhobene *Scirrhia rimosa* zeichnet sich durch sehr ausgedehnte Stromata aus, in denen viele Loculi in mehreren Längsreihen gebildet werden. Später wurden noch einige *Scirrhia*-Arten beschrieben, die alle saprophytisch auf Gräsern, Schachtelhalmen und Farnen wachsen. Es handelt sich damit um eine Parallelgattung zu *Rhopo-*

graphus, wobei in beiden Gattungen die stromatisch am stärksten ausgebildeten Arten zum Typus gewählt wurden. Diese Typuswahl ist also insofern ungünstig, als die beiden Arten nicht das Zentrum, sondern ein (allerdings das typische) Extrem der betreffenden Entwicklungsreihe darstellen.

Scirrhia rimosa (Alb. et Schw. ex Fries) Fckl.

Synonyme:

Sphaeria rimosa Alb. et Schw. — Consp. Fung. 13 (1805).
Dothidea rimosa Fr. — Summa Veg. Scand. 386 (1849).
Phoma rimosa West. — Bull. Acad. Roy. Sci. de Belgique **19** (3), 116 (1852).
Scirrhia rimosa Fckl. — Symb. myc. 221 (1869).
Scirrhia depauperata Fckl. — Symb. myc. 221 (1869).
Scirrhia rimosa var. *depauperata* Desm. — Rabh. Fungi europ. Nr. 349.

Nährsubstrat: Abgestorbene Blattscheiden und -spreiten von *Phragmites communis* Trin.
Typusmaterial: Fuckel, Fungi rhenani Nr. 1010.
Untersuchtes Material: Rabenhorst, Fungi europaei Nr. 1033 (sub *Dothidea rimosa* Fr.) Kremsmünster, Österreich, 1865, leg. Poetsch; Nr. 2328 und 2425, Rehalp bei Zürich, März 1877, leg. G. Winter;
Kunze, Fungi selecti exs. Nr. 362 und 363 (sub *Scirrhia depauperata* Fckl.), Sagentobel bei Zürich, April 1878, leg. G. Winter;
Sydow, Mycotheca germanica Nr. 590, Neubrandenburg, Mecklenburg, 4. 6. 1907, leg. P. Sydow;
Petrak, Mycotheca generalis Nr. 1877, Lettland, Adazi, 6. 1939, leg. J. Smarods; bei Bendern, Fürstentum Liechtenstein, 8. 5. 1957, leg. F. Humm (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2751); Gattiker Waldweiher, bei Langnau a. A., Kt. Zürich, 20. 11. 1957, 17. 3. 1958, 8. 5. 1958; Vernayaz bei St. Maurice, Kt. Wallis, 14. 5. 1958, leg. W. Loeffler (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2757); Juchegg am Uetliberg, Kt. Zürich, 9. 6. 1958 (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2757).

Stromata spindelförmig oder lineal, grau, 0,3 bis 3 mm breit, 1 bis 10 mm lang, selten einzeln, meist herdenweise, hie und da zusammenfließend, das Innere der Blätter zwischen den Leitbündeln erfüllend, die Epidermis emporwölbend und in parallelen Längsspalten aufreißend. Stromazellen polygonal, sehr verschieden, 4 bis 15 μ groß, außen dunkelbraun bis schwärzlich, im Stromainnern heller.

Loculi im Querschnitt rundlich, eiförmig oder elliptisch, im Längsschnitt flachgedrückt elliptisch, 100 bis 180 μ breit, 50 bis 100 μ lang, 140 bis 180 μ hoch, in langen Reihen eng beieinander, bei der Substratform auf der Blattspreite in einer Reihe, bei derjenigen auf der Blattscheide viele Reihen in einem Stroma nebeneinander, ohne eigene Wand. Mündung schmal, halsförmig. Fruchtschicht hyalin, mit vielen Asci.

Asci zylindrisch, 120 bis 170 μ lang, 9 bis 15 μ dick, dickwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, innen gerade, außen leicht gebogen stehend, achtsporig. Sporen länglich-ellipsoidisch, 18 bis 22 μ lang, 5 bis 7 μ dick, zweizellig, hyalin, leicht eingeschnürt, eine Zelle etwas dicker und länger.

Verbreitung: Europa, Nordamerika, Asien.
Nebenfruchtform: *Hadrotrichum phragmitis* Fckl. In Kultur Konidienbildung nach dem *Acremonium*-Typus.

Diese Art tritt in zwei ausgeprägten Substratformen auf: Die Form auf den Blattscheiden (Abb. 9, 10) besitzt sehr große, spindelförmige Stromata,

welche unter der Epidermis wachsen, diese emporheben und in Längsspalten über den Mündungen aufreißen. Die Stromata treten nicht hervor, erfüllen die untere Hälfte der Scheiden in der Breite mehrerer Leitbündel und enthalten eine große Zahl von Loculi in mehreren parallelen Längsreihen.

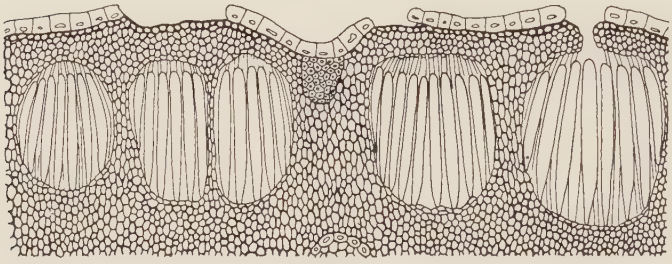


Abb. 9. Querschnitt durch fruchtendes Stroma von *Scirrhia rimosa*. Vergr. 100×

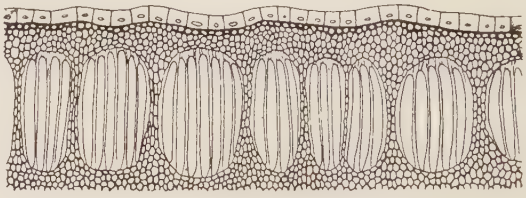


Abb. 10. Längsschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Scirrhia rimosa*. Vergr. 100×

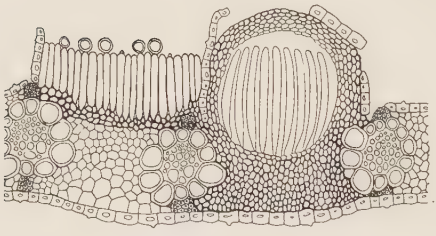


Abb. 11. Querschnitt durch die Stromata von *Hadrotrichum phragmitis* (links, mit Konidien) und *Scirrhia rimosa* (rechts, mit Asci) auf der Blattspreite von *Phragmitis communis*. Vergr. 100×

Die Form auf den Blattspreiten (Abb. 11) ist wesentlich anders gebaut, weshalb sie von FUCKEL (1869) als *Scirrhia depauperata* aufgestellt wurde. Schon WINTER (1887) ließ sie aber nur als Form gelten. Hier sind die Stromata kleiner, strichförmig, erfüllen immer nur den Raum zwischen zwei Leitbündeln, heben die Epidermis empor, reißen sie rißartig auf und treten in Längsreihen, die nur eine Reihe mit vielen Loculi enthalten, hervor. Die Loculi sind gleich gebaut wie bei der Blattscheiden bewohnenden Form, nur etwas kleiner. Manchmal kommt es auch vor, daß zwei Loculi auf beiden Blattseiten einander gegenüberstehen, was bei der anderen Form nie auftritt.

Daß die von FUCKEL (1869) als *Hadrotrichum phragmitis* aufgestellte Nebenfruchtform tatsächlich zu *Scirrhia rimosa* gehört, konnte auch experimentell nachgewiesen werden. Diese Imperfekten-Art tritt schon im Spätsommer und Herbst als Parasit auf den Blättern von *Phragmites communis* auf, bildet zuerst gelbliche Flecke und später längliche Stromata, welche die Epidermis aufbrechen und dann auf dicken Konidienträgern akrogen dunkle, kugelige, 12 bis 16 μ große, dickwandige Konidien bilden (Abb. 11). Nach

dem Absterben der Blätter im Herbst hört diese Konidienbildung auf, und es entstehen unmittelbar neben einigen dieser Stromata die Hauptfruchtformen. Dabei gehen die Stromata im Wirtsgewebe ineinander über. Diese Nebenfruchtform konnte ich nur auf den Blattspreiten finden, während FUCKEL diese auch für die Blattscheiden angibt.

Mehrere Versuche, die Konidien von *Hadrotrichum phragmitis* zum Keimen zu bringen, waren erfolglos. Hingegen gelang es, das Stroma des Pilzes in einer fünfprozentigen Zuckerlösung (auf einem Objektträger in der Feuchtkammer) zur Bildung von Hyphen anzuregen, welche dann auf Malzagar überimpft wurden, wo sie gut weiterwuchsen (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2760). Solche Kulturen zeigten ein gleiches Bild wie diejenigen, welche aus Isolationen der Ascosporen von *Scirrhia rimosa* erhalten wurden. In gleicher Weise wurden auch Konidien nach dem *Acremonium*-Typ gebildet.

Scirrhia aspidiorum (Lib.) Bubák

Synonyme:

Sphaeria aspidiorum Lib. — Plant. Crypt. Ard. Fasc. 4, Nr. 342 (1837).
Scirrhia aspidiorum (Lib.) Bub. — Ber. D. Bot. Ges. **34**, 328 (1916).
Scirrhodothis aspidiorum (Lib.) v. Höhn — Fragm. Nr. 1185 (1919).
Scirrhia confluens Starb. — Asc. f. Oeland 18 (1889).
Scirrhodothis confluens (Starb.) Th. et Syd. — Ann. myc. **13**, 415 (1915).
Monographus microsporus Niessl — KRIEGER, Fungi saxonici Nr. 240 (1886).
Scirrhia microspora (Niessl) Sacc. — Syll. F. **9**, 1040 (1891).

Nährsubstrat: Abgestorbene Blattstiele von *Athyrium filix-femina* (L.) Roth, *Athyrium alpestre* (Hoppe) Nyl., *Dryopteris Thelypteris* (L.) Gray, *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, *Dryopteris dilatata* Hoffm., *Matteuccia Struthiopteris* (L.) Todaro (= *Struthiopteris germanica* Willd.), *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Osmunda cinnamomea* L.

Typusmaterial: LIBERT, Plant. Crypt. Ard. Fasc. 4, Nr. 342 (sub. *Sphaeria aspidiorum* Lib.), *Aspidium* spec., 1837.

Untersuchtes Material: Typusmaterial;
KRIEGER, Fungi saxonici Nr. 240 (Typusmaterial von *Monographus microsporus* Niessl) auf *Athyrium filix-femina*, Königstein, Mai 1884, leg. W. KRIEGER;
KRIEGER, Fungi sax. Nr. 289 (sub *Monographus microsporus* Niessl), auf *Pteridium aquilinum*, Königstein, 28. 5. 1886, leg. W. KRIEGER;
REHM, Ascomyceten Nr. 931 (sub *Monographus microsporus* Niessl), auf *Athyrium filix-femina*, 1887, leg. W. KRIEGER;
REHM, Ascomyceten Nr. 1064 (sub *Monographus microsporus* Niessl), auf *Struthiopteris germanica* Willd., Polenztal in der Sächsischen Schweiz, 1892, leg. W. KRIEGER;
PETRAK, Flora moravica, auf *Athyrium filix-femina*, Mähr. Weißkirchen, 1921, leg. F. PETRAK;
auf *Aspidium* spec., Ottenbylund, Oelandia (Typusmaterial von *Scirrhia confluens* Star.), 1889, leg. K. STARBÄCK;
auf *Athyrium filix-femina* von Bella Vista, Mte. Generoso, Kt. Tessin, 20. 5. 1956, leg. E. MÜLLER (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2644); Stanserhorn, Kt. Obwalden, 7. 6. 1956, leg. E. MÜLLER; Schlegeltobel, Horgenberg, Kt. Zürich, 8. 5. 1958; Landforst auf Horgenberg bei Thalwil, Kt. Zürich, 8. 5. 1958 (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2755), 23. 10. 1958;
auf *Athyrium alpestre* von Bodmenalp nördl. Speer, Kt. St. Gallen. 31. 5. 1957;
auf *Dryopteris filix-mas* von Bella Vista, Mte. Generoso, Kt. Tessin, 19. 5. 1956, leg. E. MÜLLER;
auf *Dryopteris dilatata*, Landforst, Horgenberg, Kt. Zürich, 23. 10. 1958;
auf *Pteridium aquilinum* von Bella Vista, Mte. Generoso, Kt. Tessin, 20. 5. 1956,

leg. E. MÜLLER (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2640); Fernhurst, Sussex, England, 21. 6. 1956, leg. H. KERN (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2662); Sagentobel bei Zürich, 23. 10. 1957.

Stromata lineal, grau, 0,2 bis 0,5 mm breit, 0,5 bis 3 mm lang, herdenweise, hier und da zusammenfließend, im Stengelsklerenchym, von zwei bis drei Zellschichten überlagert, diese trapezförmig aufwölbend und in Längsspalten aufreißend. Oft befinden sich im Querschnitt inmitten des Stromagewebes einzelne Wirtszellen, von dunklem Stroma erfüllt. Die unterste der deckenden Zellschichten ist von dunkelbraunen Pilzhyphen durchdrungen, ebenso zwei bis vier Zellschichten des unterliegenden Wirtsgewebes. Basislinie des Stromas krummlinig. Stromazellen polygonal, rechteckig oder quadratisch, 6 bis 10 μ groß, in der Stromamitte meist etwas gestreckt, an der Peripherie dunkelbraun, gegen innen heller.

Loculi kugelig, 60 bis 100 μ hoch, 60 bis 100 μ breit, 90 bis 120 μ lang, selten einzeln, meist in einer oder mehreren Längsreihen von je 3 bis 10, nahe beieinander, unten und oben von Stromazellschichten bedeckt. Mündung halsförmig, durch spaltartiges Aufbrechen der Decke entstehend. Fruchtschicht hyalin, mit vielen, dicht stehenden Asci.

Asci zylindrisch, 40 bis 60 μ lang, 6 bis 9 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten kurz kegelförmig verschmälert, innen gerade, außen gebogen stehend, achtsporig. Sporen spindelförmig, hyalin, 9 bis 12 μ lang, 3 μ dick, zweizellig, eingeschnürt, obere Zelle etwas dicker und länger.

Verbreitung: Mittel- und Nordeuropa, Nordamerika.
Nebenfruchtform in Kultur: *Acremonium*-Typus.

Die älteste Beschreibung des Pilzes, allerdings nur als Varietät *Scirrhia rimosa β atra*, stammt von ALBERTINI und SCHWEINITZ (1805). Nomenklatorisch fällt dieser Name außer Betracht. Der LIBERTsche Name ist somit eindeutig Ausgangspunkt in der Namengebung dieser Art. Leider unterlief dann FUCKEL (1875) ein Versehen, als er die vermeintlich gleiche Art zum Repräsentanten der neuen Gattung *Monographus* erhob, in Wirklichkeit aber einen anderen Pilz vor sich hatte. Die Verwirrung wurde noch größer, als von NIESSL (1886) *Monographus microsporus* und von STARBÄCK (1889) *Scirrhia confluens* aufgestellt wurde. Die Untersuchung der entsprechenden Typusmaterialien zeigte, daß außer dem FUCKELschen Pilz alle anderen synonym sind und nach dem Vorschlag von BUBÁK (1916) *Scirrhia aspidiorum* (Lib.) Bubák heißen sollen.

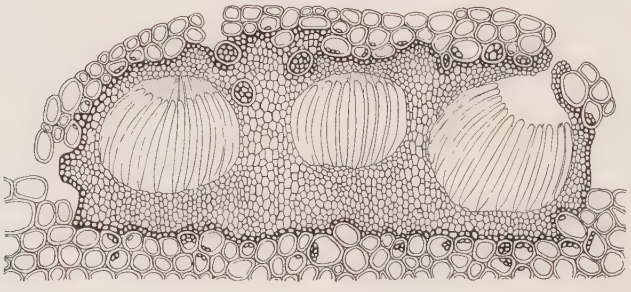


Abb. 12. Querschnitt durch ein Stroma von *Scirrhia aspidiorum* auf *Athyrium filix-femina*. Vergr. 200×

Einzig der von Albertini und Schweinitz (1805) beschriebene Pilz kann infolge Fehlens von Typusmaterial nicht mehr untersucht werden. Von der Varietät *Sphaeria rimosa α nebulosa* geben die Autoren so typische Zeichnungen, daß der Pilz eindeutig als *Scirrhia rimosa* erkannt werden kann; von der Varietät *β atra* geben sie aber nur eine ungenaue Beschreibung und die Angabe von *Pteridium aquilinum* als Substrat. Es ist nach dieser Beschreibung nicht ganz sicher, ob es sich um *Scirrhia aspidiorum* oder um *Rhopographus filicinus* handelt.

Scirrhia confluens wurde von Theissen und Sydow (1915) als Typusart der neuen Gattung *Scirrhodothis* aufgestellt. Wie Petrak (1953) bemerkte, zeigt die Untersuchung des Typusmateriales eindeutig, daß es sich auch hier um ein Synonym von *Scirrhia aspidiorum* handelt. Übrigens haben Theissen und Sydow (1918) selbst *Scirrhodothis* wieder mit *Scirrhia* synonym erklärt, die Art von Starbäck (1889) aber bestehen lassen.

Monographus Aspidiorum Fckl. ist ein ganz anderer Pilz. Er ist zu den *Sphaeriales* einzureihen, denn die Asci sind typisch unitunicat gebaut und die Poren mit Jod färbbar. Er gehört in eine Gruppe sehr nahe verwandter, zum Teil auch sicher miteinander identischer Gattungen, z. B. *Exarmidium* Karst., *Clathridium* Berl., *Griphosphaeria* v. Höhnel.

Nach Petrak (1927, 1953) ist *Scirrhia aspidiorum* anders zu beurteilen. Die Art wachse nicht nur auf den Stengeln, sondern auch auf dem Laube, bilde dann aber keine Stromata, sondern etwas kleinere Perithecien, welche von einer typischen *Didymella* Sacc. nicht zu unterscheiden seien. Nun sind tatsächlich aus Nordamerika mehrere *Didymella*-Arten auf Farnen beschrieben. Die von Petrak aufgeworfene Frage wurde auf zwei Arten zu klären versucht, nämlich mit Kultur- und Infektionsversuchen. Nach beiden Methoden läßt sich Petraks Auffassung nicht bestätigen. Auch konnte ich nie solche *Didymella*-Arten finden.

Bemerkenswert ist das große Wirtsspektrum dieser Art. Zu den schon bekannten Nährpflanzen hinzu konnte der Pilz auch noch auf *Athyrium alpestre* und *Dryopteris dilatata* nachgewiesen werden. Sicher wird die Art noch auf anderen Farnen gefunden werden können.

Scirrhia osmundicola nov. spec.

Nährsubstrat: Abgestorbene Blattstiele von *Osmunda*-Arten.

Typusmaterial: auf *Osmunda regalis* L., ob Minusio bei Locarno, Kt. Tessin, 22. 5. 1956, leg. E. Müller und H. Kern (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2642).

Stromata lineal, grau, 0,5 bis 10 mm lang, 0,2 bis 1 mm breit, herdenweise und oft zusammenfließend, von zwei bis vier Zellschichten des Substrates bedeckt, diese aufwölbend und in Längsspalten aufreißend. Dunkelbraune Pilzhyphen durchdringen die umliegenden Zellschichten. Basis des Stromas sehr unregelmäßig, hyphig aufgelöst und in Spalten zwischen die unterliegenden Substratzellen eindringend. Stromazellen rundlich oder länglich, 4 bis 10 μ groß, stark dunkelbraun, dickwandig.

Loculi kugelig, 50 bis 60 μ breit, 40 bis 65 μ lang, 40 bis 65 μ hoch, in einer oder mehreren Längsreihen unregelmäßig, ziemlich eng gelagert angeordnet. Mündung halsförmig. Fruchtschicht hyalin, mit wenigen Asci.

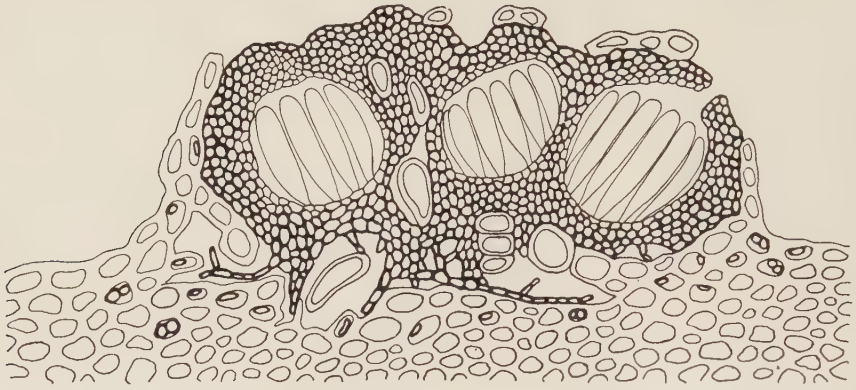


Abb. 13. Querschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Scirrhia osmundicola*. Vergr. 300×

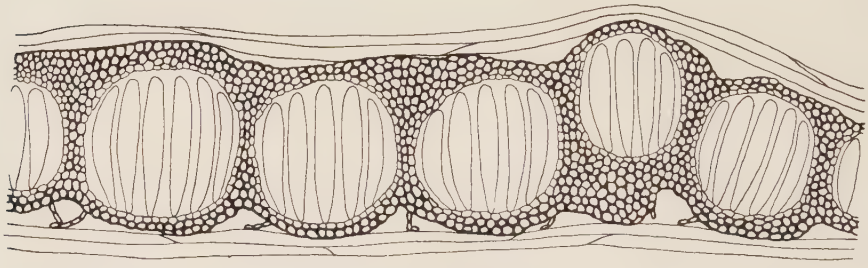


Abb. 14. Längsschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Scirrhia osmundicola* Vergr. 300×

Asci keulig bis zylindrisch, 30 bis 60 μ lang, 5 bis 10 μ dick, oben abgerundet, unten verschmälert, doppelwandig, achtsporig. Sporen oblong-keulig, hyalin, 10 bis 16 μ lang, 3 bis 4 μ dick, zweizellig, nicht oder schwach eingeschnürt, obere Zelle dicker.

Nebenfruchtform: Bisher keine bekannt, in Kultur ohne Konidienbildung.

5. *Scirrhophragma* Theiss. et Syd.

Ann. myc. **13**, 423 (1915)

Synonym:

? *Metameris* Theiss. et Syd. — Ann. myc. **13**, 342 (1915).

Typus: *Scirrhophragma osmundae* (P. et C.) nov. comb.

Stromata lineal-strichförmig, herdenweise, grau, ein bis drei Zellschichten unter der Epidermis, diese aufwölbend und in einem schmalen Längsspalt

aufreißend, aus braunem Pseudoparenchym aufgebaut. Stromazellen polygonal bis rechteckig, außen dunkelbraun, gegen innen heller, dünnwandig. Braunschwarze Pilzhyphen dringen in die umliegenden Wirtszellen ein.

Loculi kugelig, mehrere in einer Längsreihe eng gelagert angeordnet, ohne eigene Wand. Fruchtschicht hyalin, mit dichtstehenden Asci und dünnfädigen Paraphysoiden, die in der Reife aufgelöst werden.

Asci zylindrisch, oben abgerundet, unten verschmälert, doppelwandig, achtsporig. Sporen länglich-spindelig, zwei- bis dreizellig, eingeschnürt, an den Enden verschmälert.

Theissen und Sydow (1915) begründeten die Gattung nur mit der kurzgefaßten Diagnose: „Stroma wie bei *Scirrhia;* Paraphysen vorhanden; Sporen farblos, dreizellig." Gerade der Bau der Stromata und die Anordnung der Loculi unterscheiden aber neben den Sporen die beiden Gattungen sehr eindeutig. Bei *Scirrhia* sind die Stromata viel ausgedehnter und die Loculi darin in mehreren Reihen, während bei *Scirrhophragma* ein viel spärlicher entwickeltes Stroma eine einzige Längsreihe von Loculi enthält.

Scirrhophragma osmundae (P. et C.) nov. comb.

Synonyme:

Dothidea osmundae P. et C. — Report on the State Museum **30**, 64 (1877).
Dothidella osmundae (P. et C.) Sacc. — Syll. F. **2**, 631 (1883).
Scirrhophragma regalis Theiss. et Syd. — Ann. myc. **13**, 423 (1915).
? *Monographus japonicus* Syd. — Ann. myc. **10**, 408 (1912).
? *Metameris japonica* Theiss. et Syd. — Ann. myc. **13**, 342 (1915).

Typusmaterial: *Dothidea osmundae* P. et C., dead stems of *Osmunda,* Buffalo, New York, leg. G. W. Clinton (Herbarium N. Y. State Museum).

Weiteres untersuchtes Material: auf *Osmunda regalis* L., ob Minusio bei Locarno, Kt. Tessin, 22. 5. 1956, leg. E. Müller und H. Kern (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2639); bei Brione ob Locarno, Kt. Tessin, 23. 7. 1958 (= Reinkultur Stamm ETH N. 2758).

Stromata lineal-strichförmig, 180 bis 250 μ breit, 1 bis 2 mm lang, im Querschnitt rundlich oder oft dreieckig mit breiter Basis, herdenweise gleichmäßig die Oberfläche des Stengel bedeckend, grau, von ein bis drei Zellchichten des Substrates bedeckt, dieses leicht aufwölbend und über den Mündungen in einem dünnen Längsspalt aufreißend, aus braunem Pseudoparenchym aufgebaut. Stromazellen im Querschnitt polygonal, im Längsschnitt rechteckig, 3 bis 10 μ groß, dünnwandig, innen hellbräunlich, in der äußersten Schicht dunkelbraun. Vereinzelte dunkle, dickwandige Pilzhyphen dringen knäuelig in die zwei bis drei umliegenden Substratzellschichten ein, erfüllen die Lumina dieser Zellen aber nie. Basislinie des Stromas sehr uneben.

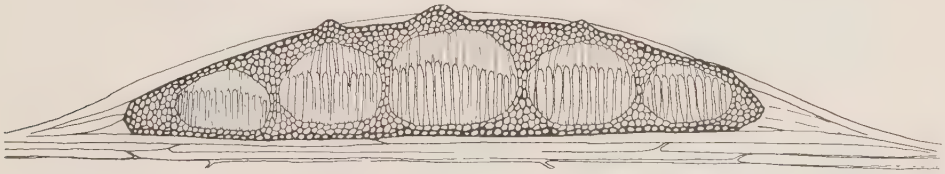


Abb. 15. Längsschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Scirrhophragma regalis.* Vergr. 120×

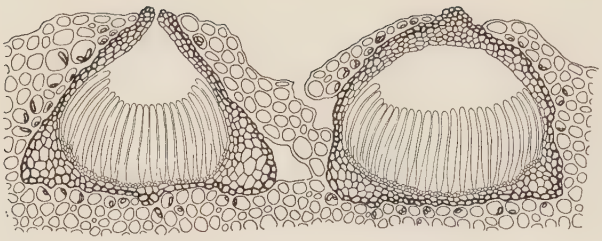


Abb. 16. Querschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Scirrhophragma osmundae*. Vergr. 160×

Loculi kugelig, 90 bis 125 μ lang, 120 bis 170 μ breit, 90 bis 125 μ hoch, in einer, selten zwei Längsreihen zu vier bis acht eng gelagert angeordnet, rings von einigen Zellreihen des Stroma umgeben. Fruchtschicht hyalin, mit Baumwollblau färbbar, mit vielen und dicht stehenden Asci und dünnfädigen Paraphysoiden, die sich bei der Reife auflösen.

Asci zylindrisch, 60 bis 80 μ lang, 5 bis 8 μ dick, oben abgerundet, unten verschmälert, im Zentrum gerade, außen gebogen stehend, doppelwandig, achtsporig. Sporen zweireihig, länglich-spindelig, hyalin, 12 bis 17 μ lang, 3 bis 5 μ dick, zwei- bis dreizellig, eingeschnürt, Endzellen 5 bis 7 μ, abgerundet, leicht verschmälert, Mittelzelle 3 bis 4 μ, würfelig, vorstehend.

Verbreitung: Mittel- und Südeuropa.

Nebenfruchtform: bisher keine bekannt, in Kultur Konidienbildung nach dem *Acremonium*-Typus.

Die Art ist durch ihre in der Mitte verdickten Sporen gegenüber der sehr ähnlichen *Scirrhia aspidiorum* gut charakterisiert. THEISSEN und SYDOW (1915) geben die Sporen als dreizellig an, was nicht stets zutrifft, indem man auch in reifen Fruchtkörpern oft viele zweizellige Sporen finden kann, die aber immer in der Mitte verdickt sind. Das Stroma ähnelt der genannten *Scirrhia*-Art sehr stark, ist aber nie so stark ausgebildet.

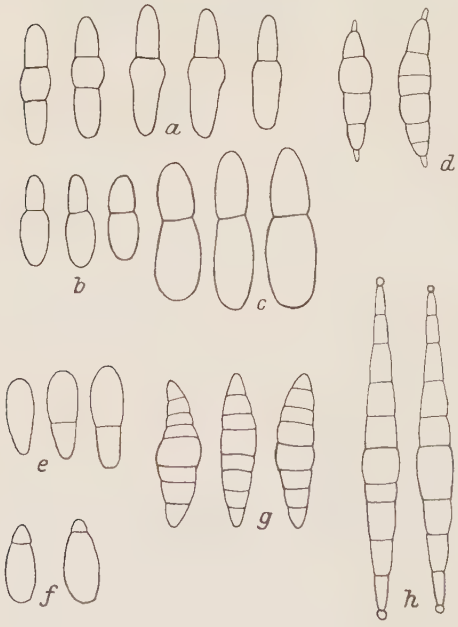


Abb. 17. Ascosporen von

a) *Scirrhophragma osmundae* Vergr. 1000×.

b) *Scirrhia aspidiorum* 1000×.

c) *Scirrhia rimosa* 1000×.

d) *Rhopographus filicinus* 500×.

e) *Scirrhia osmundicola* 1000×.

f) *Omphalospora melaena* 1000×.

g) *Dangeardiella fusiforma* 500×.

h) *Dangeardiella macrospora* 1000×

Wie *Rhopographus filicinus* ist auch dieser Pilz nur aus der nördlichen Hemisphäre bekannt, obwohl die Wirtspflanze ein Kosmopolit ist.

Ob *Metameris japonica*, auf *Osmunda regalis* var. *japonica*, mit der vorliegenden Art identisch sei, konnte nicht untersucht werden, da das Originalmaterial nicht mehr zu beschaffen ist (es ist weder im Herbar Sydow, Reichsmuseum Stockholm, noch im Herbar K. Hara, Japan, zu finden). Die Identität beider Pilze scheint mir aber sehr wahrscheinlich zu sein, denn das von den Autoren genannte Unterscheidungsmerkmal (epidermaler Clypeus) ist gar nicht in typischer Ausbildung vorhanden. Die fragliche Art stellt deshalb wahrscheinlich nur eine Form auf einem schwach verschiedenen Substrat dar.

6. *Dangeardiella* Sacc. et Syd.

Syll. Fung. **14**, 683 (1899)

Typus: *Dangeardiella macrospora* (Schroeter) Sacc. et Syd.

Stromata einzeln oder gruppenweise, grauschwarz, länglich, einige Zellschichten unter der Epidermis. Die deckenden Schichten werden bei der Reife aufgewölbt und in zwei bis vier Längsstreifen aufgerissen, so daß die Stromata gut sichtbar werden. Äußerste ein bis zwei Stromazellschichten dunkelbraun, dickwandig, innere Zellen farblos, dünnwandig. Vereinzelte Hyphenknäuel in den umgebenden Wirtszellen. In der Mündungszone Stroma gratartig erweitert.

Loculi ellipsoidisch-walzenförmig in einer (selten zwei) Längsreihe zu ein bis drei angeordnet, mit dünnen Zwischenwänden. Oft auch zwei bis drei Einzelfruchtkörper der Länge nach unter derselben Decke. Fruchtschicht hyalin, mit vielen dicht stehenden Asci und Paraphysoiden.

Asci zylindrisch, doppelwandig, achtsporig. Sporen spindelförmig, hyalin, mehrzellig, nahe der Mitte eingeschnürt und mit einer verdickten Zelle.

Die von Schroeter (1897) als *Monographus macrosporus* aufgestellte Art wurde von Saccardo und Sydow (1899) wegen der anders gebauten Sporen zum Typus der neuen Gattung *Dangeardiella* gemacht. Die Gattung blieb bisher monotypisch, sie ist durch die eigenartig hervorbrechenden Stromata gut charakterisiert. Die nun neu gefundene zweite Art weist ebenfalls die gleiche typische Art des Hervorbrechens und denselben Bau der Loculi auf, ist aber im Bau der Sporen und in der Wahl der Wirtspflanze verschieden.

Über die systematische Stellung wurde schon mehrfach diskutiert (Theissen und Sydow 1915, Bubák 1916, v. Höhnel 1918); überall wird die Gattung als zu den Dothideaceen gehörig betrachtet. Wie aber schon oben Seite 366) erwähnt, ist die Gattung infolge wesentlicher Unterschiede nicht mit dem *Dothidea*-Typus verwandt.

Dangeardiella macrospora (Schroeter) Sacc. et Syd.

Synonyme:

Monographus macrosporus Schroeter — Pilze Schlesiens **2**, 477 (1897).

Dangeardiella macrospora (Schroeter) Sacc. et Syd. — Syll. F. **14**, 683 (1899).

Lophidium Aspidii Rostr. — Videnskabs-Selskabets Skrifter, Math. naturv. Kl. 4, 12 (1904).

Platystomum Aspidii (Rostr.) Sacc et Sacc. — Syll. F. **17**, 891 (1905).
Dangeardiella Aspidii (Rostr.) Petr. — Mycotheca generalis Nr. 420 (1930).

Nährsubstrat: Abgestorbene Blattstiele von *Athyrium alpestre* Nyl.
Außerdem werden in der Literatur noch *Athyrium filix-femina* Roth und *Dryopteris austriaca* Woynar als Wirte angegeben.

Untersuchtes Material: REHM, Ascomyceten Nr. 1663 (sub *Monographus macrosporus* Schroeter), Fürstenalp, Kt. Graubünden, Juni 1905, leg. A. VOLKART;
PETRAK, Mycotheca generalis Nr. 420 (sub *Dangeardiella aspidii* Petr.), Schweden, Berg Kebnekaise, Juli 1930, leg. J. LIND;
am Albulapaß, Kt. Graubünden, 17. 7. 1954, leg. E. MÜLLER; ob Nante, Kt. Tessin, Juli 1955, leg. H. KERN; am Albulapaß, Kt. Graubünden, 28. 7. 1956, leg. E. MÜLLER (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2678); Bodmenalp nördl. Speer, Kt. St. Gallen, 31. 5. 1957.

Stromata elliptisch oder spindelförmig, grauschwarz, einzeln oder gruppenweise, 0,8 bis 1,2 mm lang, 0,3 bis 0,7 mm breit, 0,3 bis 0,4 mm hoch, stark polsterförmig hervorbrechend, zwei bis drei Zellschichten unter der Epidermis, die Deckschicht in zwei bis vier Streifen abhebend. Außen dunkelzelliges, einschichtiges Parenchym, das gegen innen in mehr oder weniger parallelhyphiges, hyalines Gewebe übergeht. Stromazellen prismatisch oder polyedrisch, 7 bis 14 μ groß. Hyphige Pilzzellen dringen vereinzelt in ein bis drei unterliegende Wirtszellschichten ein, aber nicht in die Deckschicht. In der Mündungszone ist das Stroma gratartig aufgewölbt, darunter befindet sich bis zu den Asci langgestreckt-prismatisches Gewebe, das sich über den Asci fädig auflöst.

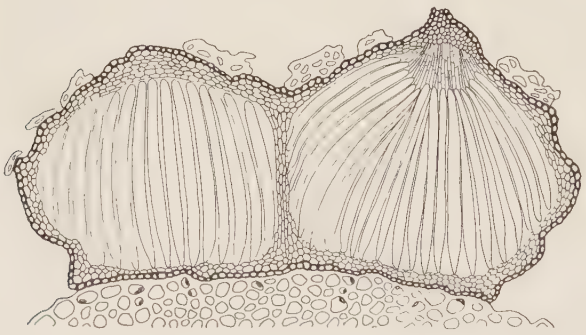


Abb. 18. Querschnitt durch zwei verwachsene Fruchtkörper von *Dangeardiella macrospora*. Vergr. 100×

Loculi walzenförmig, 400 bis 500 μ lang, 300 μ breit, 200 bis 250 μ hoch, einzeln oder in ein bis zwei Längsreihen zu zwei bis drei im hyalinen Gewebe entstehend. Wand weich, faserig, Zwischenwände sehr dünn. Oft sind auch zwei bis drei Einzelloculi mit eigener brauner Wand in kleinem Abstand der Länge nach unter derselben Decke vereinigt. Mündung kleinzellig, in der Reife mit länglichem Spalt aufreißend. Fruchtschicht hyalin, mit vielen dichtstehenden Asci.

Asci zylindrisch, 120 bis 180 μ lang, 10 bis 13 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, im Zentrum gerade, außen gebogen stehend, achtsporig. Sporen zwei- bis dreireihig, lang spindelförmig, hyalin, 50 bis 75 μ lang, 6 bis 8 μ dick, gerade oder schwach gebogen, sechs bis neun Septen, nahe der Mitte eingeschnürt und die eine anstoßende Zelle verdickt, an beiden Enden mit kleiner Kugelzelle von 2 μ Durchmesser.

Verbreitung: Mittel- und Nordeuropa.
Nebenfruchtform: bisher keine bekannt, in Kultur ohne Konidienbildung.

Nach Schroeter (1897) wurde die Art mehrfach untersucht (Theissen und Sydow 1915, Bubak 1916, v. Höhnel 1918). Erst v. Höhnel erkannte aber die Paraphysoiden, die vor allem unter der gratartig erweiterten Mündungszone gut sichtbar sind, während sie im reifen Fruchtkörper zwischen den sehr dicht stehenden Asci aufgelöst sind.

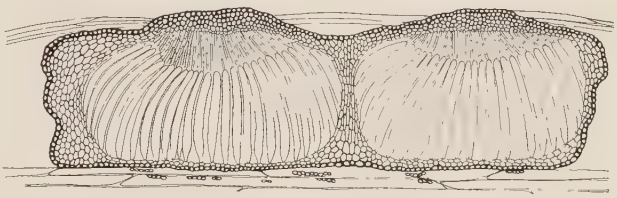


Abb. 19. Längsschnitt durch zwei verwachsene Fruchtkörper von *Dangeardiella macrospora*. Vergr. 65×

Dangeardiella fusiforma nov. spec.

Nährsubstrat: abgestorbene Blattstiele von *Dryopteris filix-mas* Schott.

Typusmaterial: Val Tuors bei Bergün, Kt. Graubünden, 1850 m, 26. 7. 1956, leg. E. Müller (= Reinkultur Stamm ETH Nr. 2684).

Stromata länglich-ellipsoidisch, grauschwarz, vereinzelt oder in kleinen Gruppen, 0,5 bis 1,2 mm lang, 0,3 bis 0,7 mm breit, 0,2 bis 0,4 mm hoch, drei bis fünf Zellschichten unter der Epidermis, diese Decke allmählich emporwölbend und zwei bis drei Streifen aufreißend. Äußerste ein bis zwei Zellschichten dunkelbraun, dickwandig, innere Zellen hyalin, dünnwandig, Stromazellen polyedrisch oder prismatisch, 5 bis 12 μ groß. Einzelne Pilzhyphen dringen knäuelig in die angrenzenden unterliegenden und deckenden Substratzellen ein. In der Mündungszone Stroma gratartig erweitert, darunter über den Asci fädig auslaufendes Gewebe.

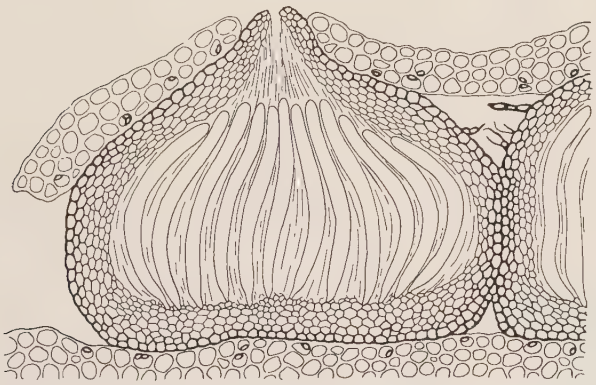


Abb. 20. Querschnitt durch einen Fruchtkörper von *Dangeardiella fusiforma*. Vergr. 160×

Loculi ellipsoidisch-walzenförmig, 300 bis 400 μ lang, 250 bis 300 μ breit, 150 bis 200 μ hoch, in einer (selten zwei) Längsreihe von zwei bis drei angeordnet, oft einzeln oder auch zwei bis drei Einzelfruchtkörper in kleinem Abstand der Länge nach unter derselben Decke. Fruchtschicht hyalin, mit vielen dicht stehenden Asci.

Asci zylindrisch, 120 bis 180 μ lang, 10 bis 14 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, im Zentrum gerade, außen schief stehend, achtsporig. Sporen zweireihig, spindelförmig, hyalin, 30 bis 40 μ

lang, 8 bis 11 μ dick, gerade oder schwach gebogen, sechs- bis acht- bis (selten) zehnzellig, eingeschnürt, eine mittlere Zelle dicker.

Verbreitung: Mitteleuropa.

Nebenfruchtform: Bisher keine bekannt, in Kultur ohne Konidienbildung.

Stromata elliptica, atra, solitaria vel pauca congregata, 0,5—1,2 mm *long.,* 0,3—0,7 mm *lat.,* 0,2—0,4 mm *alt.,* 3—5 *stratibus cellularum caulis tectis, cellulis parte exteriore fuscis, parte interiore hyalinis. Loculi solitares vel* 2—3 *in ordini longitudinali,* 300—400 μ *long.,* 250—300 μ *lat.,* 150—200 μ *alt., depresso-globosi, ostiolo papilliformi. Asci cylindracei, numerosi,* 120—180 × 10—14 μ, *bituncati, apice rotundati, in stipitem breve acutati, octospori. Sporidia disticha, fusiforma, hyalina,* 30—40 × 8—11 μ, 6—8-*cellularia, leniter constricta.*

Durch die kleineren, typisch spindelförmigen Sporen und kleinere Loculi ist diese Art ohne weiteres von der Typusart abzutrennen. Im Gegensatz zu *Dangeardiella macrospora* dringen bei diesem Pilz vereinzelte Hyphen auch in die deckenden Substratschichten ein. Sonst verhält sich die Art gleich wie die Typusart, scheint aber viel seltener zu sein.

7. *Euryachora* Fckl.

Symb. myc. 220 (1869)

Typus: *Euryachora sedi* (Fr.) Fckl.

Euryachora sedi (Fr.) Fckl.

Synonyme:

Ectostroma sedi Fr. — Syst. myc. **2**, 602 (1822).
Leptostroma sedi Link — Handbuch **3**, 345.
Dothidea sedi de Not. — Comment. Soc. Critt. ital. **2**, 490 (1867).
Euryachora sedi (Fr.) Fckl. — Symb. myc. 220 (1869).
Sphaeria thoracella Rutstroem — Spic. plant. crypt. Sueciae 17 (1794).
Dothidella thoracella Sacc. — Syll. F. **2**, 630 (1883).
Euryachora thoracella (Rutstr.) Schroeter — Krypt.fl. Schlesiens 3 (2), 473 (1897).

Nährsubstrat: abgestorbene Blätter und Stengel von *Sedum*-Arten.

Untersuchtes Material: auf *Sedum roseum* Scop., Feerbergen, Simplon, Kt. Wallis, 10. 6. 1953, leg. E. MÜLLER; Echalpe, Hautes-Alpes, France, 28. 6. 1958, leg. E. MÜLLER.

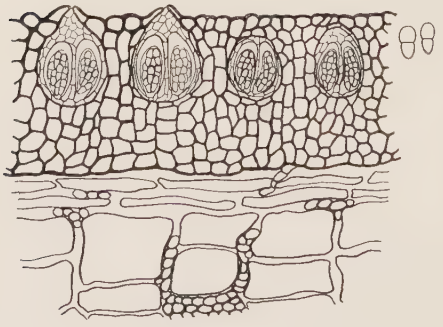


Abb. 21. Querschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Euryachora sedi.* Vergr. 330×, Sporen 650×

Stromata auf den Blättern rundlich oder elliptisch, auf den Stengeln länglich, groß, oft zusammenfließend und bis zentimetergroße Flächen bildend, mattschwarz, 30 bis 55 μ hoch, zwischen Epidermis und Kutikula. Stromazellen dunkelbraun, polygonal, 5 bis 9 μ groß, dickwandig. Basislinie und Oberfläche eben, nur über den Mündungen etwas vorstehend.

Loculi kugelig oder etwas senkrecht ellipsoidisch, 25 bis 40 μ groß.

Fruchtschicht hyalin, mit wenigen, locker stehenden Asci und zellig-faserigen, oft früh verschleimenden Paraphysoiden.

Asci ellipsoidisch, 20 bis 30 μ lang, 9 bis 12 μ dick, oben breit abgerundet, unten verschmälert, doppelwandig, achtsporig. Sporen breit ellipsoidisch, 5 bis 6 μ lang, 2 bis 3 μ dick, hyalin, zweizellig, eingeschnürt.

Fries (1822) hat den Pilz als Imperfekten beschrieben. Fuckel (1869) hat als erster die Asci gesehen und die Art als Typus von *Euryachora* aufgestellt.

8. *Omphalospora* Theiss. et Syd.

Ann. Myc. **13**, 361 (1915)

Synonyme:

Ascospora Fr. — Summa Veg. Scand. 425 (1849).
Plectosphaerella Kirschst. — Krypt.fl. Brdbg. **9** (3), 310 (1938).
Plectosphaerina Kirschst. — Ann. Myc. **36**, 368 (1938).

Typus: *Omphalospora stellariae* (Lib.) Theiss. et Syd.

Omphalospora stellariae (Lib.) Theiss. et Syd.

Synonyme:

Dothidea stellariae Lib. — Plant. Crypt. Ard. exs. Nr. 172 (1832).
Euryachora stellariae Fckl. — Symb. Myc. 220 (1869).
Phyllachora stellariae Schroeter — Krypt.fl. Schles. **3** (2), 471 (1897).
Dothidella stellariae Lind. — Ann. Myc. **3**, 428 (1905).
Omphalospora stellariae (Lib.) Theiss. et Syd. — Ann. Myc. **13**, 361 (1915).

Nährsubstrat: abgestorbene Blätter und Stengel von *Stellaria holostea* L.

Untersuchtes Material: Libert, Plant. Crypt. Ard. Fasc. 2, Nr. 172 (sub *Dothidea stellariae* Lib.), 1832.
Sydow, Mycotheca germanica Nr. 1588, Brandenburg, Grafenbrück, 6. 4. 1917, leg. H. et P. Sydow;
Brünn in Mähren, Juli 1926, leg. J. Hruby; bei St. Pons, Gréolières, Alpes Maritimes, France, 25. 6. 1956, leg. E. Landolt und E. Müller.

Stromata sehr verschieden geformt, meist länglich, 0,5 bis 1 mm breit, bis 3 mm lang, oft durch Zusammenfließen bedeutend größer, zwischen Epidermis und Kutikula, 80 bis 90 μ hoch, oben höckerig, unten in das Wirtsgewebe eindringend. Stromazellen dunkelbraun, polyedrisch oder gestreckt, 6 bis 9 μ groß, dickwandig.

Loculi kugelig oder ellipsoidisch, 45 bis 55 μ hoch, 30 bis 45 μ breit, ohne vorgebildete Mündung. Fruchtschicht hyalin, mit wenigen Asci und paraphysoidem Gewebe.

Asci keulig oder ellipsoidisch, 24 bis 30 μ lang, 7 bis 12 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, achtsporig. Sporen oblong-keulig, 9 bis 11 μ lang, 2 bis 3 μ dick, hyalin, sehr ungleich zweizellig, oben breit, unten stark verschmälert, nicht eingeschnürt.

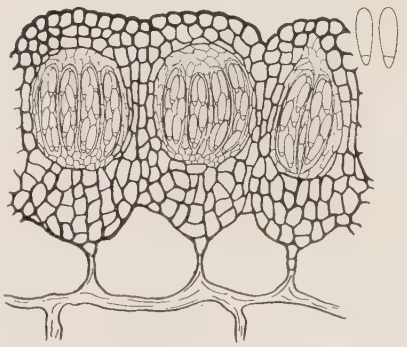


Abb. 22. Querschnitt durch ein fruchtendes Stroma von *Omphalospora stellariae*. Vergr. 330×, Sporen 650×

Diese mit *Euryachora* nahe verwandte Art wurde wegen der ausgesprochen apiosporen Sporen von THEISSEN und SYDOW (1915) zum Typus der neuen Gattung *Omphalospora* erhoben. Alle übrigen Merkmale stimmen aber mit *Euryachora* weitgehend überein.

Omphalospora himantia (Fr.) v. Höhnel

Synonyme:

Ascospora himantia Fr. — Summa Veg. Scand. 425 (1849).
Omphalospora himantia (Fr.) v. Höhnel — Fragm. 1005 (1917).

Nährsubstrat: abgestorbene Stengel und Blätter von *Laserpitium-*, *Eryngium-*, *Bupleurum-*, *Seseli-* und *Daucus*-Arten.

Untersuchtes Material: SYDOW, Mycotheca germanica Nr. 1091 (sub *Mycosphaerella himantia*), Bayern, Prüssberg, Februar 1909, leg. A. VILL;
PETRAK, Mycotheca generalis Nr. 460, Niederdonau, Pfaffstätten, Mai 1940, leg. F. PETRAK;
Ruffach, Elsaß, Frankreich, 28. 4. 1951; Filisur, Kt. Graubünden, 2. 6. 1951; Mt. Ventoux, Provence, France, 18. 6. 1956; Echalpe, Val Queyras, Hautes-Alpes, France, 28. 6. 1958, alle leg. E. MÜLLER.

Stromata kugelig, 60 bis 75 μ groß, dunkelbraun, oft verwachsen und durch hyphige Stränge miteinander verbunden, unter der Kutikula, meist in großen Herden. Zellen polyedrisch oder rechteckig, 7 bis 16 μ groß, sehr dickwandig.

Loculi kugelig, einzeln, 40 bis 50 μ groß, mit halsartiger Mündung. Fruchtschicht hyalin, mit wenigen, locker stehenden Asci und paraphysoidem Gewebe.

Asci oblong, 24 bis 30 μ lang, 8 bis 15 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, achtsporig. Sporen oblong, 6 bis 8 μ lang, 2 bis 3 μ dick, hyalin, ausgesprochen apiospor.

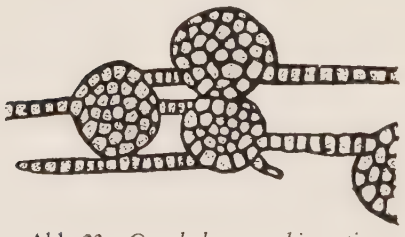


Abb. 23. *Omphalospora himantia*, von oben gesehen. Vergr. 150×

Diese Art besitzt keine eigentlichen Stromata, aber die Einzelloculi sind oft verwachsen und durch hyphige Stränge verbunden. Die übrigen Merkmale stimmen mit der Typusart überein. MÜLLER und v. ARX (1950) deuten die Art als stromatisch reduzierte, weiterentwickelte Form.

Omphalospora melaena (Fr.) v. Höhnel

Synonyme:

Sphaeria melaena Fr. — Syst. Myc. **2**, 431 (1822).
Asteroma melaenum (Fr.) Nissl — Verh. Naturf. Ver. Brünn **14**, 7 (1876).
Sphaerella melaena Auersw. — Myc. europ. **6**, 16.
Asterina melaena (Fr.) Sacc. — Syll. F. **1**, 48 (1882).
Ascospora melaena (Fr.) Winter — Rabh. Krypt.fl. **1** (2), 341 (1887).

Omphalospora melaena (Fr.) v. Höhn — Fragm. 1179 (1919).
Dothidella frigida Rostr. — Bot. Tidskr. **15**, 233 (1886).
Phyllachora frigida Rostr. — Kr. Vidensk. Forh. **9**, 5 (1891).
Euryachora frigida (Rostr.) Th. et Syd. — Ann. myc. **13**, 366 (1915).
(teste Petrak, 1941).

Nährsubstrat: abgestorbene Stengel verschiedener Leguminosen.

Untersuchtes Material: Petrak, Mycotheca generalis Nr. 461, auf *Astragalus onobrychis* L., Niederdonau, Pfaffstätten, Mai 1940, leg. F. Petrak;

auf *Phaca alpina* L., Bosco, Valle Maggia, Kt. Tessin, 3. 10. 1939, leg. A. Volkart; Maloja, unterhalb Fornogletscher, Kt. Graubünden, 15. 8. 1952, leg. S. Blumer; Pontresina, Val Roseg, Kt. Graubünden, 30. 6. 1955, leg. R. Corbaz; Bernina, Kt. Graubünden, 15. 7. 1956, leg. W. Loeffler;

auf *Medicago falcata* L., Wartau, Kt. St. Gallen, 4. 6. 1950, leg. E. Müller;

auf *Astragalus glycyphyllus* L., Wartau, Kt. St. Gallen, 14. 6. 1950, leg. E. Müller; Näfels, Kt. Glarus, 7. 7. 1950, leg. E. Müller; Tende, Alpes Maritimes, France, 6. 8. 1953, leg. E. Müller und K. H. Richle.

Stromata sehr verschieden geformt, bis zentimetergroße Flächen bildend, mattschwarz, unter der Kutikula, ungleich dick, aus dicht miteinander verwachsenen, dunkelbraunen Hyphen zusammengesetzt. Stromazellen dunkelbraun, polyedrisch oder rechteckig, 6 bis 9 μ groß, dickwandig.

Loculi kugelig oder eiförmig, 40 bis 65 μ groß, ohne vorgebildete Mündung. Fruchtschicht hyalin, mit wenigen Asci und paraphysoidem Gewebe.

Asci keulig oder ellipsoidisch, 25 bis 35 μ lang, 7 bis 12 μ dick, doppelwandig, oben abgerundet, unten verschmälert, achtsporig. Sporen oblongkeulig, 7 bis 12 μ lang, 2 bis 3 μ dick, hyalin, apiospor.

Diese Art steht nach ihrem stromatischen Bau zwischen *Omphalospora stellariae* und *Omphalospora himantia*. Das Wirtsspektrum ist relativ groß, umfaßt aber nur Leguminosen.

Zusammenfassung

Die Geschichte der *Dothideales* sensu Theissen und Sydow wird kurz erörtert. Es handelt sich um eine sehr heterogene Gruppe, deren Vertreter nach heutiger Auffassung in verschiedenste Verwandschaftskreise einzuordnen sind.

Die „dothidealen" Gattungen *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Theiss. et Syd., *Rhopographus* Fckl., *Dangeardiella* Sacc. et Syd., *Euryachora* Fckl. und *Omphalospora* Theiss. et Syd. werden an Hand ihrer Typen und einzelner anderer Arten genauer untersucht. Es werden Morphologie, Kulturversuche, Ökologie und Zytologie berücksichtigt.

Die Gattungstypen sind in ihrer stromatischen und sexuellen Phase auf bestimmte Substrate beschränkte Saprophyten. Zur Auslösung der Loculibildung ist bei *Scirrhia, Scirrhophragma* und *Rhopographus* eine Kälteperiode notwendig.

Alle Gattungen sind typisch ascolocular gebaut und zeichnen sich mit Ausnahme von *Dangeardiella* durch ausgedehnte, viele Loculi in Längsreihen enthaltende Stromata aus. *Scirrhia, Scirrhophragma* und *Rhopographus* bil-

den eine Gruppe, die der Gattung *Dothidea* Fr. zwar nahe steht, aber nicht mit ihr in einer Familie vereinigt werden kann. *Euryachora* und *Omphalospora* sind nahe mit *Mycosphaerella* Joh. verwandt, während *Dangeardiella* wieder einen eigenen Typ darstellt, dessen Verwandte in der Nähe von *Lophiostoma* Ces. et de Not. zu suchen sind.

Als die zweite Art der Gattung wird *Dangeardiella fusiforma* nov. spec. beschrieben; sie steht der Typusart sehr nahe.

Für die Imperfekten-Art *Hadrotrichum phragmitis* Fckl. kann der experimentelle Nachweis erbracht werden, daß es sich um die Nebenfruchtform von *Scirrhia rimosa* Fckl. handelt.

Summary

A short historical account has been given of the *Dothideales* sensu THEISSEN and SYDOW. This group was found to be heterogeneous with representatives now put into various orders.

Morphological, cultural, ecological and cytological studies have been made on the type species of the following dothideacious genera: *Scirrhia* Fckl., *Scirrhophragma* Theiss. et Syd., *Rhopographus* Fckl., *Dangeardiella* Sacc. et Syd., *Euryachora* Fckl. and *Omphalospora* Theiss. et Syd.

The stromatic and sexual stages of these species occur saprophytically only on certain definite substrates. The formation of loculi in the genera *Scirrhia, Scirrhophragma* and *Rhopographus* requires a cold period.

All the genera have typical ascostromatic structure and, except *Dangeardiella*, rows of many loculi in a large stroma. The genera *Scirrhia, Scirrhophragma* and *Rhopographus* constitute one group. They stand near to *Dothidea* Fr., but do not belong to the same family. *Euryachora* and *Omphalospora* are closely related to *Mycosphaerella* Joh. *Dangeardiella* is a genus on its own, its nearest relative being *Lophiostoma* Ces. et de Not.

Dangeardiella fusiforma nov. spec. is described as the second species of this hitherto monotypic genus.

By cultural studies *Hadrotrichum phragmitis* Fckl. is demonstrated to be the imperfect stage of *Scirrhia rimosa* Fckl.

Literaturverzeichnis

ALBERTINI, I. B., und L. D. SCHWEINITZ, 1805: Conspectus Fungorum. Leipzig.

VON ARX, J. A., 1949: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Mycosphaerella*. Sydowia **3**, 28—160.

BARR, M. E., 1958: Life history studies of *Mycosphaerella Tassiana* and *M. typhae*. Mycologia **50**, 501—513.

BUBÁK, FR., 1916: Systematische Untersuchungen einiger Farne bewohnenden Pilze. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **34**, 295—332.

Fries, E. M., 1821—1832: Systema Mycologicum. 3 Bände.

— —, 1849: Summa vegetabilium Scandinaviae, Sectio posterior. Leipzig.

Fuckel, L., 1869: Symbolae mycologicae. Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze. Jb. Nassauisch. Ver. f. Naturk. **23—24**, 1—459.

— —, 1875: Dritter Nachtrag, l. c. **29—30**, 1—39.

Hansen, H. N., and W. C. Snyder, 1947: Gaseous sterilization of biological materials for use as a culture media. Phytopathology **37**, 369—371.

Hess, H., und E. Müller, 1951: Zur Entwicklungsgeschichte von *Dothidella insculpta* (Wallr.) Theiss et Syd. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **61**, 5—34.

von Höhnel, F., 1907: *Wettsteinina* n. g. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-nat. Kl., Abt. 1, **116**, 126—129 (Fragmente zur Mykologie Nr. 128).

— —, 1917: Über *Ascospora microscopica* Niessl. l. c. **126**, 7—9 (Fragmente zur Mykologie Nr. 1005).

— —, 1918: Mykologische Fragmente. Ann. Myc. **16**, 35—174.

— —, 1919: Über *Sphaeria aspidiorum* Libert. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-nat. Kl., Abt. 1, **128**, 77—78 (Fragmente zur Mykologie Nr. 1185).

— —, 1919 b: Über *Sphaeria himantia* Persoon. l. c. **128**, 65—69 (Fragmente zur Mykologie Nr. 1179).

— —, 1920: Mykologische Fragmente. Ann. Myc. **18**, 85.

Kirschstein, W., 1939: Über neue, seltene und kritische Ascomyceten und Fungi imperfecti, 2. Ann. Myc. **37**, 88.

Lind, J., 1905: Über einige neue und bekannte Pilze. Ann. Myc. **3**, 427—432.

Lindau, G., 1897: *Pyrenomycetineae* in: Engler und Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien. Leipzig.

Loeffler, W., 1957: Untersuchungen über die Ascomyceten-Gattung *Dothidea* Fr. Phytopath. Z. **30**, 349—386.

Luttrell, E. S., 1951 a: Taxonomy of the Pyrenomycetes. Univ. Missouri Stud. **24**, Nr. 3. Columbia.

— —, 1951 b: The Morphology of *Dothidea collecta*. Amer. J. Bot. **38**, 460—471.

— —, 1955: The Ascostromatic Ascomycetes. Mycologia **47**, 511—532.

Müller, E., und J. A. von Arx, 1950: Einige Aspekte zur Systematik pseudosphärialer Ascomyceten. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **60**, 429—397.

Munk, A., 1957: Danish Pyrenomycetes. Dansk Bot. Ark. **17** (1), 1—491.

Nannfeldt, J. A., 1932: Studien über die Morphologie und Systematik der nicht-lichenisierten inoperculaten Discomyceten. Uppsala.

Niessl, G., 1876: Verh. Naturf. Ver. Brünn **14**, 7.

Peck, C. H., 1877: Report on the State Museum 30, 64.

Petrak, F., 1927: Beiträge zur Pilzflora von Sternberg in Mähren. Ann. Myc. **25**, 344—388.

— —, 1941: Über *Dothidella frigida* Rostr. Mykologische Notizen Nr. 967. l. c. **39**, 304—305.

— —, 1953: Ergebnisse einer Revision der Grundtypen verschiedener Gattungen der Askomyzeten und Fungi imperfecti 4. Sydowia **7**, 295.

Rutstroem, C. B., 1794. Spicilegium plantarum cryptogamarum Sueciae. Abo.

Saccardo, P. A., 1882—1931: Sylloge Fungorum. Vol. 1—25. Patavii.

Schroeter, J., 1897: Kryptogamen-Flora von Schlesien **3** (2). Breslau.

Sowerby, J., 1809: Coloured figures of English Fungi or Mushrooms **3**. London.

Starbäck, K., 1889: Ascomyceter fran Oeland och Oestergötland. Bihang till K. Svenska Vetrakad. Handlingar **15** (3), Nr. 2. Stockholm.

Sydow, H., und P., 1912: Novae fungorum species 8. Ann. Myc. **10**, 408.

Theissen, F., und H. Sydow, 1915: Die *Dothideales*. l. c. **13**, 149—746.

— —, und — —, 1918: Vorentwürfe zu den *Pseudosphaeriales*. l.c. **16**, 1—34.

Westendorp, G. D., 1852: Sur quelques cryptogames inédites ou nouvelles pour la Flore Belge. Bull. Acad. Roy. Sci. de Belgique **19** (3), 116.

Winter, G., 1887: Die Pilze Deutschlands, Österreichs und der Schweiz (Ascomyceten); in Rabenhorsts Kryptogamen-Flora **1** (2). Leipzig.

Anhang

Scirrhia osmundicola nov. spec.

Lateinische Diagnose:

Stromata linearia, grisea, 0,5—10 mm *long.,* 0,2—1 mm *lat., congregata,* 2—4 *stratibus cellularum caulis tectis et erumpentia, cellulis globosis, fuscis,* 4—10 *μ diam. Loculi globosi,* 50—60 *μ lat.,* 40—65 *μ long.,* 40—65 *μ alt., in ordines longitudinales. Asci clavati vel cylindracei,* 30—60 × 5—10 *μ, bitunicati, apice rotundati, in stipitem acutati, octospori. Sporidia clavata, hyalina,* 10—16 × 3—4 *μ, uniseptata, apiospora.*

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Forstpflanzenkrankheiten, Hann. Münden

Untersuchungen über Sporenkeimung und Myzelwachstum von *Septotis populiperda* Waterman et Cash.[1])

Von

H. J. Schwenke

Mit 4 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Keimung der Konidien. a) Einfluß der Hydratur auf die Keimung; b) Einfluß der Temperatur auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche; c) Einfluß von Pappelblattextrakt auf die Keimung. — 2. Das Myzelwachstum. a) Einfluß der Temperatur; b) Abhängigkeit des Myzelwachstums von der Hydratur. — Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Der als Pappelblattparasit bekannte Pilz *Septotis populiperda* Waterman et Cash (Waterman und Cash 1950) hat seit einigen Jahren erhöhte Aufmerksamkeit auf sich gezogen (van den Ende 1952). Schmidle (1953) hält den Pilz für identisch mit *Septogloeum populiperdum* Johannes (Johannes 1950, 1951), der in Pappelbaumschulen als erheblicher Schädling besonders an einjährigen Pflanzen beobachtet worden ist. Außer der Feststellung, daß *Septotis populiperda* als Wundparasit anzusehen ist (Schmidle 1953), der bei künstlicher Infektion nicht nur Blätter, sondern auch die Rinde zu schädigen vermag (Schmidle 1955), und dem Hinweis, daß die Hauptfruchtform auf Blättern vornehmlich bei hoher Luftfeuchtigkeit gebildet wird (van den Ende 1954), fehlen in der Literatur weitere Angaben über den Parasitismus und die Umweltansprüche des Pilzes. Hier unsere Kenntnisse zu erweitern, ist das Ziel meiner Arbeit gewesen.

1. Keimung der Konidien

a) Einfluß der Hydratur auf die Keimung

Für die Entstehung und den Verlauf von Mykosen sind die Feuchtigkeitsverhältnisse im Substrat und in der Luft von wesentlich größerer Bedeutung als die Temperatur. Während diese innerhalb eines relativ weiten

1) Gekürzt wiedergegebener Teil einer nur in wenigen Pflichtexemplaren vorliegenden Dissertation (Universität Göttingen, Forstliche Fakultät, 1957).

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Zycha, bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit und sein stets hilfsbereites Interesse zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Rahmens nur differenzierend wirkt, sind begrenzte Feuchtigkeitsverhältnisse für das Zustandekommen einer Infektion unbedingte Voraussetzung (GÄUMANN 1951). Dies beruht darauf, daß die Hydratur der Pilze den Hydraturschwankungen der Umgebung folgt, wobei vor allem die Hydraturverhältnisse des Pilzmyzels vollständig von denjenigen der Außenwelt abhängig sind (WALTER 1931, 1950). Daher ist für die Beurteilung der parasitischen Eignung eines Pilzes die Kenntnis seines Hydraturminimums, d. h. jenes Wasserzustandes, bei dem er gerade noch zu keimen und zu wachsen vermag, sowie des Hydraturmaximums besonders wichtig. Für *Septotis populiperda* ist weder das Hydraturminimum der Keimung noch dasjenige des Myzelwachstums bekannt. Der Hydratureinfluß auf die Keimung drückt sich u. a. sowohl in der Keimungsgeschwindigkeit (GÄUMANN 1951) — Zeit vom Ansetzen der Sporen bis zur Ausbildung eines Keimschlauches — als auch in der Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche aus. Bei unseren Versuchen wurde beides bestimmt, wobei es vor allem darauf ankam, das Hydraturminimum der Keimung selbst zu ermitteln. Weiterhin sollte geklärt werden, ob *Septotis* zur optimalen Keimung tropfbar flüssiges Wasser benötigt oder ob hierzu eine hohe relative Luftfeuchtigkeit genügt.

Alle im folgenden beschriebenen Versuche wurden mit dem *Septotis*-Stamm S 213 durchgeführt, der am 2. 9. 1955 im Institut für Forstpflanzenkrankheiten, Hann. Münden, aus Sporen von Pappelblättern aus einer Baumschule in Ohrensen (Schleswig-Holstein) isoliert und für alle weiteren Versuche auf Malzagar (3 % Malzextrakt, 1,8 % Agar) in Petrischalen bei 23 °C kultiviert wurde.

Das für die Keimungsversuche benötigte Sporenmaterial wurde von mit diesem Stamm beimpften Blättern gewonnen, indem unter dem Binokular genau erkannte Sporodochien mit einer Nadel abgehoben und sofort in bzw. auf das Nährsubstrat übertragen wurden.

Entsprechend WALTER (1950) dient als Maß der Hydratur (hy) im folgenden in allen Fällen die relative Dampfspannung (r. D.). Sie entspricht der relativen Luftfeuchtigkeit, und durch sie lassen sich sowohl die osmotische Wirksamkeit von Lösungen als auch der Quellungszustand von Nährsubstraten ausdrücken (100 % hy = 100 % r. D.).

Die Keimungsversuche wurden zunächst auf festem Nährsubstrat nach der Methode von WALTER (1924) bei relativen Dampfspannungen von 100 % bis 84 % hy durchgeführt, und zwar bei der für die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche optimalen Temperatur von + 21 °C (siehe Seite 393).

Hierzu wurden zunächst Glasscheiben (5 × 5 cm) sorgfältig gereinigt und abgeflammt; sodann wurde mit einer Pipette ein Tropfen von flüssigem sterilem Malzagar (3 % Malz, 1,8 % Agar) von etwa 1 cm Durchmesser aufgebracht und mit einer ausgeglühten Platinöse gleichmäßig über die ganze Scheibe verteilt. Die aufgebrachte Agarschicht darf hierbei nicht zu dick sein, da sonst, insbesondere bei niedrigen Hydraturgraden, die Einstellung des Feuchtigkeitsgleichgewichtes nicht schnell genug erfolgt. Die so behandelten Glasscheibchen wurden in sterilen Petrischalen 72 Stunden lang zum Trocknen ausgelegt.

Von der Verwendung von Gelatinesubstraten, deren Quellungsverhältnisse günstiger sind als die von Agar (Burcik 1950), wurde abgesehen; einmal weil der Pilz bisher auf Malzagar kultiviert worden war und zum anderen, weil auf diese Weise ein Vergleich mit *Dothichiza* und *Cytospora*, deren Myzelwachstum von Hermann (1956) ebenfalls auf Malzagar untersucht worden sind, ermöglicht wurde.

Zur Einstellung der gewünschten Hydraturen wurden Schwefelsäuremischungen nach Walter (1931, S. 164) verwendet. Mit diesen wurden kleine Glasschalen (4 cm Durchmesser und 2,5 cm Höhe) bis 6 mm unter den Rand gefüllt, nachdem der Rand vorher mit Exsikkatorfett bestrichen worden war. Auf die so vorbereiteten Schälchen wurden die agarbestrichenen, getrockneten und kurz zuvor mit 4 bis 5 Sporodochien beimpften Glasscheibchen mit der Agarseite nach unten aufgelegt und fest angedrückt. Die Schalen wurden in einem Thermostaten bei 21 °C aufgestellt. Die Kontrolle wurde ohne Öffnung der Schalen mit dem Mikroskop durchgeführt und erfolgte zum erstenmal nach 4 Stunden, danach stündlich. Als Keimungsbeginn wurde derjenige Zeitpunkt angenommen, zu dem mindestens 20 Sporen je Sporodochium gekeimt waren. Die Länge der Keimschläuche wurde nach 12, 24, 36 und 72 Stunden festgestellt, indem je Versuchsgefäß 20 nebeneinanderliegende Keimschläuche ausgemessen wurden. Der Versuch wurde am 27. 8. 1956 begonnen und dreimal wiederholt.

Um festzustellen, ob das Hydraturminimum der Keimung auf festem Substrat demjenigen in Rohrzuckerlösung entspricht, wurden nach Walter (1931) Rohrzuckerlösungen mit osmotischen Werten, welche relativen Dampfspannungen von 100 bis 84 % hy entsprachen, hergestellt und die Sporen hierin in Hängetropfen auf Hohlschliffobjektträgern bei 21 °C zum Keimen gebracht. Die Tropfen hatten einen Durchmesser von 5 bis 6 mm; in jeden wurden 2 bis 3 Sporodochien eingebracht. Die Abdichtung der Deckgläser erfolgte mit Vaseline. Kontrolle und Auswertung erfolgten wie bei den Versuchen auf festem Substrat.

Die Versuche haben ergeben (Abb. 1), daß die Keimungsgeschwindigkeit auf festem Substrat (Malzagar) und in Rohrzuckerlösungen unterschiedlich ist. Auf Malzagar keimen die Sporen am schnellsten bei 99 und 98 % hy, wobei der Keimungsbeginn bei etwa 8 Stunden liegt. Dieses Hydratur-Optimum ist zwar nicht sehr ausgeprägt, aber doch deutlich sichtbar.

Bei 97 % hy ist die gleiche Keimungszeit wie bei 100 % hy zu beobachten. Dann steigt die Kurve immer steiler an, um nach 36 Stunden den Keimungsbeginn bei 92 % hy aufzuzeigen. Darunter konnte auch nach 120 Tagen keine Keimung mehr

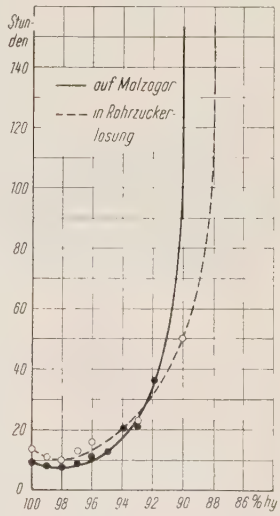


Abb. 1. Abhängigkeit der Keimungsgeschwindigkeit von der Hydratur. (in Stunden)
Versuchsbeginn: 27. 8. 1956.
Versuchsdauer: 120 Tage.
Temperatur 21 °C

beobachtet werden. Die Keimung erfolgte bei 92 % hy nur sehr langsam, und es traten ausgesprochene Xeromorphosen auf (Abb. 2).

Das Hydraturminimum liegt nach diesen Ergebnissen zwischen 92 und 90 % hy.

Demgegenüber liegt das Hydraturminimum in Rohrzuckerlösung niedriger, nämlich zwischen 90 und 88 % hy. Das ist insofern bemerkenswert, als einerseits das Hydraturoptimum der Keimung demjenigen auf Malzagar zwar entspricht (98 % hy), aber andererseits die Keimungsgeschwindigkeit in dem für die Keimung offensichtlich günstigen Bereich von 100 bis 97 % hy in Rohrzuckerlösung stets niedriger ist als auf Malzagar in feuchter Luft entsprechender Dampfspannung.

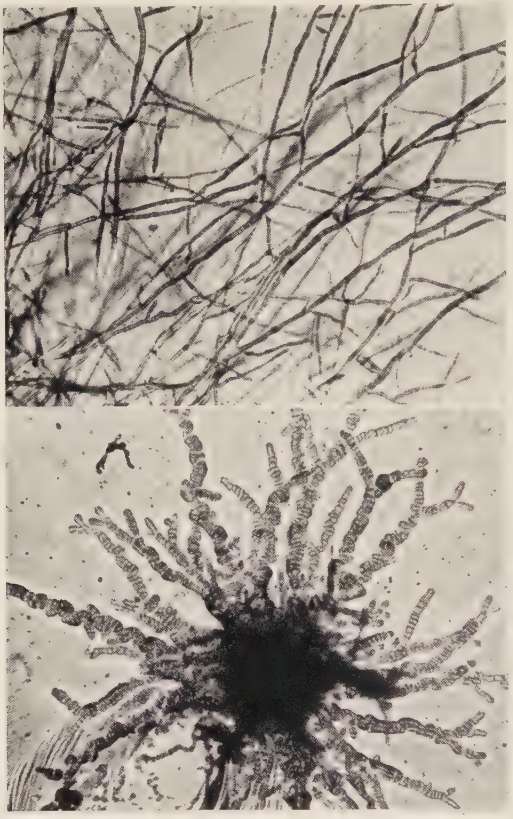


Abb. 2. Keimung auf Agar, 7 Tage nach Versuchsbeginn. Oben: bei 95 % hy bereits normal entwickeltes Myzel; unten: bei 92 % hy keimendes Sporodochium, starke Xeromorphosen

Für *Septotis populiperda* konnte somit die Ansicht WALTERS (1931), wonach „das Hydraturminimum bei Kulturen in Zuckerlösungen demjenigen auf festem Substrat entspricht", nicht bestätigt werden.

Eine Ergänzung und Bestätigung erfahren die dargelegten Ergebnisse durch die Untersuchung der Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche, deren Resultate in Tabelle 1 wiedergegeben sind. Hier ist zunächst zu ersehen, daß die Wachstumsgeschwindigkeit auf Malzagar diejenige in Rohrzuckerlösungen um ein Mehrfaches übersteigt. Das stark ausgeprägte Wachstumsoptimum liegt in beiden Fällen bei 98 % hy, es ist jedoch auf Malzagar noch markanter als in Rohrzuckerlösung. Eine Hydratur von 98 % hy ist also sowohl für die Keimung als auch für das Wachstum der Keimschläuche von *Septotis populiperda* optimal. Das Wachstum der Keimschläuche entspricht auch den Keimungskurven in Abbildung 1. Auf Malzagar erreichen die Keimschläuche bei 92 % hy nur etwa 6 % der Länge, die sie bei 98 % hy erreichen, und in Rohrzuckerlösungen bei 90 % hy nur 4 %, wobei allerdings bei 92 % hy die Keimung völlig unterblieben ist. Hierdurch erfahren die festgestellten Hydraturminima eine weitere Bestätigung.

Tabelle 1
Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche in Abhängigkeit von der Hydratur
Versuchsbeginn 27. August 1956

Hydratur % hy	Länge der Keimschläuche nach 72 Stunden			
	auf Malzagar		in Rohrzuckerlösung	
	absolut µ	relativ %	absolut µ	relativ %
100	2500	31	800	67
99	6000	75	900	75
98	**8000**	**100**	**1200**	**100**
97	3000	38	820	68
96	1100	14	700	58
95	1000	13	300	25
94	1000	13	310	26
93	600	8	250	21
92	500	6	0	0
90	0	0	50	4
88	0	0	0	0
86	0	0	0	0
84	0	0	0	0

b) Der Einfluß der Temperatur auf die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche

Der folgende Versuch diente vornehmlich der Bestimmung des Temperaturoptimums für die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche von *Septotis populiperda*. Dieses zu kennen, war für die Untersuchungen über den Einfluß der Hydratur auf die Keimung von großer Bedeutung; denn die Lage des Hydraturgrenzwertes für die Keimung ist von der Temperatur abhängig (Tomkins 1930), und in der Regel liegt das absolute Hydraturminimum bei optimaler Temperatur für das Wachstum.

Für die Untersuchungen wurden Hängetropfenkulturen auf Hohlschliffobjektivträgern gewählt (siehe Seite 391). Als Keimungslösung fand destilliertes Wasser (= 100 % hy) Verwendung sowie Rohrzuckerlösung von 98 % hy nach Walter (1931). Untersucht wurden Temperaturen von + 6 ° bis + 30 °C in Thermostaten bzw. im Kühlschrank. Nach 24 Stunden erfolgte die Auswertung durch Messung der Länge von 20 nebeneinanderliegenden Keimschläuchen je Hängetropfenkultur. Der Versuch wurde am 22. 8. 1956 begonnen und einmal wiederholt.

Nicht unerwartet haben die Versuche ein klares Optimum für die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimhyphen ergeben. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, liegt es bei + 21 °C. Dabei beeinflussen die übrigen hier gegebenen Keimungs- und Wachstumsbedingungen die Lage des Optimums offenbar nicht; denn obwohl das Wachstum der Keimschläuche in destilliertem Wasser we-

sentlich geringer ist als in der Rohrzuckerlösung, liegt das Temperaturoptimum in beiden Fällen gleich. Darüber hinaus zeigt Tabelle 2, daß die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimhyphen außerhalb der optimalen Temperatur stark nachläßt. Da sie dabei in dest. Wasser relativ noch schneller sinkt als in der Rohrzuckerlösung, und da zudem die absolute Wachstumsgeschwindigkeit in der Rohrzuckerlösung 1,5- bis 3mal so groß ist wie in destilliertem Wasser, scheint sich die Temperaturempfindlichkeit des Hyphenwachstums bei gleichzeitiger Verschlechterung der übrigen Wachstumsbedingungen zu verstärken.

Tabelle 2

Wachstumsgeschwindigkeit der Keimhyphen in Abhängigkeit von der Temperatur

Versuchsbeginn 22. August 1956

Temperatur °C	Länge der Keimhyphen nach 24 Stunden			
	in Rohrzuckerlösung = 98 % hy		in destill. Wasser = 100 % hy	
	absolut µ	relativ %	absolut µ	relativ %
+ 6°	0	0	0	0
+ 15°	95	23	30	11
+ 17°	110	26	35	13
+ 19°	170	40	80	29
+ 21°	**420**	**100**	**280**	**100**
+ 23°	225	54	130	46
+ 25°	150	36	70	25
+ 30°	0	0	0	0

c) Einfluß von Pappelblattextrakt auf die Keimung

Zur Vervollständigung der Untersuchungen über die Keimungsphysiologie soll noch die Frage geprüft werden, ob die bei einer Verwundung der Wirtspflanze zutage tretenden Zellinhaltsstoffe hemmend oder fördernd auf die Keimung von *Septotis populiperda* wirken.

Um dies zu klären, wurden frische Blätter einer „Robusta"-Pappel kleingeschnitten, in einem Mörser zerstampft und in einem Leinentuch ausgepreßt. Von dem Preßsaft wurden Verdünnungen von 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000 und 1 : 100 000 in destilliertem Wasser hergestellt. Darin sowie in unverdünntem Preßsaft und in destilliertem Wasser wurden Sporen bei 21 °C in Hängetropfenkulturen (vgl. Seite 391) nach 24 Stunden zur Keimung gebracht. Dabei wurden 20 nebeneinanderliegende Keimschläuche je Kultur gemessen. Die Kulturen in unverdünntem Preßsaft sowie in den Verdünnungen 1 : 10 und 1 : 100 wurden 72 Stunden lang beobachtet. Die Versuche wurden dreimal wiederholt.

Die Versuche ergaben, daß in unverdünntem Extrakt sowie in den Verdünnungen 1 : 10 und 1 : 100 bis zu einer Beobachtungsdauer von 72 Stunden keine Keimung stattfand. Diese Konzentrationen wirken offensichtlich stark hemmend. Bei Betrachtung der Tabelle 3, welche die Länge der Keimschläuche nach 24 Stunden wiedergibt, könnte es zunächst so scheinen, daß starke Verdünnungen günstig auf die Keimung gewirkt hätten, denn die Keimschläuche sind in der Verdünnung 1 : 100 000 um 10 % länger als in destilliertem Wasser. Aber einmal ist die Differenz nicht signifikant, und zum anderen haben die bisherigen Untersuchungen (siehe Seite 393) ergeben, daß die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche in feuchter Luft von 100 % hy dreimal so groß ist wie in destilliertem Wasser. Insgesamt gesehen wird also die Keimung durch den Blattextrakt deutlich gehemmt.

Tabelle 3

Sporenkeimung in ungekochtem Pappelextrakt T = 21 °C.

Versuchsbeginn: 20. August 1956

Verdünnungsgrad	Länge der Keimschläuche nach 24 Stunden	
	absolut (μ)	relativ (%)
unverdünnt	0	0
1 : 10	0	0
1 : 100	0	0
1 : 1000	75	21
1 : 10 000	115	31
1 : 100 000	385	110
dest. Wasser	350	**100**

2. Das Myzelwachstum

a) Einfluß der Temperatur

Die thermischen Kardinalpunkte für das Wachstum von *Septotis populiperda* sind bisher nicht bekannt. Wenn auch die in künstlicher Kultur gewonnenen Werte nicht ohne weiteres auch für die Verhältnisse im Freien gelten müssen, so läßt ihre Kenntnis doch gewisse Rückschlüsse auf den Ablauf einer Erkrankung durch *Septotis populiperda* zu. Auch interessiert z. B. die Frage, ob und bei welcher Temperatur der Pilz in eine Kältestarre tritt, ob sich also das Myzel im Winter wesentlich auszubreiten vermag oder nicht.

Zu den Versuchen wurde Myzel des Stammes S 213 (siehe Seite 390) verwendet; einerseits als Altstamm, welcher nur auf Malzagar gezogen wurde, andererseits aber auch als reisolierter Stamm von beimpften Blättern, da letzterer einzelne abweichende Eigenschaften erkennen ließ.

Für die Temperaturuntersuchungen wurden aus 6 bis 8 Tage alten Plattenkulturen mit einem Korkbohrer myzelbewachsene Agarscheibchen von 6 mm Durchmesser steril ausgestochen und in mit 10 cm^3 Malzagar steril ausgegossene Petrischalen (10 cm ⌀) so übertragen, daß das Impfgut mit der Myzelseite nach oben in der Mitte der Schale lag. Die Kulturen wurden dann im Thermostaten bzw. im Kühlschrank oder in der Tiefkühltruhe bei Temperaturen von — 5 ° bis + 32 °C gehalten. Die Temperaturschwankungen betrugen maximal ± 0,5° C. Je Temperaturstufe wurden 3 Serien zu je 2 Kulturen angesetzt. Die Versuchsdauer betrug bei günstigen Temperaturen jeweils

6 Tage — bis zu diesem Zeitpunkt hatte sich das Myzel bis fast an den Rand der Schalen ausgebreitet — und bei ungünstigen Temperaturen bis zu 60 Tagen. Zur Untersuchung der Kältestarre wurden Kulturen 10 Tage lang bei — 10 °C und — 5 °C aufbewahrt, dann optimaler Temperatur ausgesetzt und dort ebenfalls 6 Tage lang beobachtet.

Kriterium bei Auswertung der Versuche war der Durchmesserzuwachs der Kulturen. Die Zuwachsmessungen erfolgten täglich, indem 2 aufeinander senkrecht stehende Durchmesser des Myzelrasens ausgemessen wurden. Von diesen Daten wurden jeweils 6 mm (Inokulum) abgezogen.

Aus dem Verlauf der in Abbildung 3 wiedergegebenen Kurven ist zunächst ersichtlich, daß das Optimum für den Altstamm wie auch für den reisolierten Stamm bei + 19 °C liegt, daß aber auch der absolute Durchmesserzuwachs beider Stämme im Temperaturoptimum und bei den suboptimalen Temperaturen während des Beobachtungszeitraumes nahezu gleich ist. Demgegenüber treten wesentliche Wachstumsunterschiede bei den Temperaturen auf, welche über dem Optimum liegen. Während die Kurve S 213 reisol. zwischen 19 ° und 28 °C nur allmählich fällt, sinkt die Kurve S 213 in diesem Bereich vom Optimum her außerordentlich rasch. Dementsprechend zeigt der frisch reisolierte Stamm zwischen + 18 ° und + 28 °C 50 % und mehr des Zuwachses im Optimum, was bei dem Altstamm nur zwischen + 18 ° und + 22 °C der Fall ist. Verbindet man mit diesen Feststellungen die in Tabelle 4 aufgeführten Ergebnisse der Untersuchungen über die Temperaturgrenzwerte des Myzelwachstums, aus denen hervorgeht, daß bei dem Altstamm S 213 das Minimum höher und das Maximum niedriger liegt als bei dem frisch reisolierten Stamm S 213 reisol., so ist ersichtlich, daß sich mit zunehmender Kulturdauer auf Malzagar die Empfindlichkeit von *Septotis populiperda* gegenüber Temperatureinflüssen offenbar stark verändert.

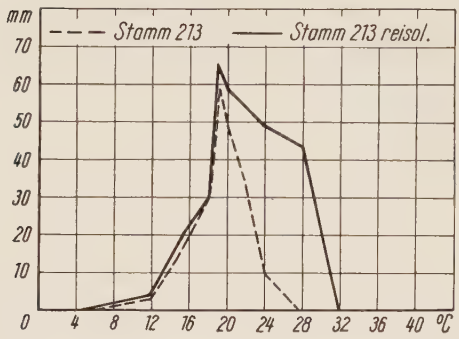


Abb. 3. Einfluß der Temperatur auf das Myzelwachstum. Durchmesserzuwachs der Kulturen nach 6 Tagen in mm (August 1956)

Tabelle 4

Die thermischen Kardinalpunkte zweier *Septotis*-Stämme verglichen mit den von HERMANN (1956) für *Dothichiza* und *Cytospora* gefundenen Werten

	Septotis populiperda		*Dothichiza populea*	*Cytospora chrysosperma*
	S 213 reisol.	S 213	nach HERMANN (1956)	
Minimum	0...+ 2°C	+ 4..+ 6°C	— 2... 0°C	— 2... 0°C
Optimum	+ 19°C	+ 19°C	+ 23°C	+ 28°C
Maximum	+ 32°C	+ 28°C	+ 30°C	+ 35°C

In Tabelle 4 sind ferner den für *Septotis populiperda* gefundenen thermischen Kardinalpunkten die von HERMANN (1956) nach der gleichen Methode ermittelten Werte für *Dothichiza populea* und *Cytospora chrysosperma* gegenübergestellt. Es zeigt sich dabei, daß das Optimum für *Septotis populiperda* mit + 19 °C relativ niedrig liegt im Vergleich zu dem von Rindenpilzen wie *Dothichiza* (+ 23 °C) und *Cytospora* (+ 28 °C). Darüber hinaus weichen die Werte für das Temperaturminimum von *Septotis* insofern grundsätzlich von den von HERMANN für *Dothichiza* und *Cytospora* angegebenen ab, als für *Septotis populiperda* unter dem Gefrierpunkt auch nach 60 Tagen noch kein Wachstum beobachtet werden konnte. Der Pilz stellt im günstigsten Fall sein Wachstum zwischen 0 °C und + 2 °C ein — der Altstamm schon zwischen + 4 °C und + 6 °C — und tritt unter dem Gefrierpunkt sofort in eine Kältestarre, nimmt aber nach Wiedereintritt günstiger Temperaturen, nach einer Erholungszeit von 1 bis 2 Tagen, sein normales Wachstum wieder auf. Die Kulturen, welche 10 Tage bei — 10 °C und — 5 °C ihr Wachstum eingestellt hatten, blieben anschließend bei optimaler Temperatur im Wachstum nicht hinter denjenigen zurück, die ständig der optimalen Temperatur ausgesetzt waren.

b) Abhängigkeit des Myzelwachstums von der Hydratur

Der Einfluß der Hydratur auf das Myzelwachstum von *Septotis populiperda* wurde auf Malzagar nach der auf Seite 391 beschriebenen Methode WALTERS untersucht. An Stelle der Sporodochien wurde hier jedoch jeweils ein Impfstück (3 mm ⌀) des Stammes S 213 aus der Randzone einer 6 bis 8 Tage alten Petrischalenkultur auf die vorbereiteten Glasscheibchen (vgl. Seite 390) gebracht, ehe diese über den Schwefelsäuremischungen befestigt wurden. Das Myzelwachstum wurde bei der hierfür optimalen Temperatur von + 19 °C gleichzeitig bei Hydraturgraden von 100 % hy bis 72 % hy an jeweils 3 Kulturen untersucht. Der Versuch wurde dreimal wiederholt. Die Auswertung wurde nach der Durchmesserzunahme der Kulturen vorgenommen, wobei die Zuwachsmessungen täglich erfolgten.

Nach WALTER (1950) soll das Wachstum der Pilze am intensivsten in wasserdampfgesättigter Luft sein, also bei einer Hydratur von 100 % hy. Schon HEINTZELER (1939) konnte jedoch nachweisen, daß es von dieser allgemeinen Regel Ausnahmen gibt. Sie fand für *Aspergillus glaucus* ein Hydraturoptimum von 93 % hy. Weiter wies sie darauf hin, daß bei 100 % hy die Transpiration des Pilzes offenbar gestört ist, worauf verschiedene pathologische Erscheinungen, wie das Platzen einzelner Hyphen sowie das Auftreten von Riesenzellen, hinweisen. Auch für *Septotis populiperda* ist ein ausgeprägtes Hydraturoptimum bei 98 % nachzuweisen. Dieses Optimum tritt schon nach einer Versuchsdauer von einem Tage ganz klar hervor, wie aus Abbildung 4 ersichtlich ist, welche die relativen Zuwachskurven nach 1, 2 und 4 Tagen wiedergibt. Den Versuchen ist weiter zu entnehmen, daß nach einem Tage bei einer Hydratur von 100 % nur 25 % des Zuwachses bei 98 % hy festzustellen ist. Nach 4 Tagen hat sich die Differenz etwas gemin-

dert; zu diesem Zeitpunkt werden bei 100 % immerhin schon 53 % des optimalen Zuwachses erreicht. An dem Sachverhalt der ausgesprochenen Optimumkurve ändert sich jedoch innerhalb des Beobachtungszeitraumes nichts. Die hier für *Septotis populiperda* erstellte Kurve hat den gleichen Charakter wie die Kurve, welche HEINTZELER (1939) für *Aspergillus niger* wiedergibt: Von einem Optimum bei 98 % hy an erfolgt ein stetiger Abfall des Myzelwachstums bis zu einer Hydratur von 94 %. Eine relative Zuwachskurve für 6 und 8 Tage, in der noch die Werte 92, 90 und 88 % hy hätten berücksichtigt werden können, konnte nicht erstellt werden, weil bei 98 % hy das Myzel schon nach 4 Tagen den ihm zur Verfügung stehenden Nährboden fast vollständig bewachsen hatte und die Versuche aus diesem Grunde abgebrochen werden mußten. Zwischen 94 und 88 % hy war jedoch das Wachstum nur noch schwach. Bei 86 % hy konnte in den wiederholten Versuchen auch nach 30 Tagen kein Wachstum mehr festgestellt werden. Das Hydraturminimum liegt somit zwischen 88 % und 86 %.

3. Besprechung der Ergebnisse

Die Beantwortung der Frage, in welche Gruppe der poikilohydren Organismen nach HEINTZELER (1939) *Septotis populiperda* einzureihen ist, wird durch die Tatsache erschwert, daß das Hydraturminimum der Keimung in Rohrzuckerlösung bei diesem Pilz demjenigen auf festem Substrat entgegen der von WALTER (1931) ausgesprochenen verallgemeinernden Ansicht nicht entspricht. HEINTZELER bezeichnet in Abwandlung der Einteilung WALTERS (1931) als xerophil solche Arten, deren Hydraturminimum unter 80 % hy liegt, Arten mit einem Hydraturminimum zwischen 80 und 90 % hy als mesophil und als hygrophil solche, deren Hydraturminimum über 90 % hy liegt. Sie wählte dabei als Kriterium für die Einreihung in diese Gruppen das Hydraturminimum der Keimung. Sieht man also das Hydraturminimum auf festem Substrat, welches zwischen 92 % und 90 % hy liegt, als maßgeblich an, so ist *Septotis* als hygrophil zu bezeichnen. Nach dem Hydraturminimum in Rohrzuckerlösung (zwischen 90 und 88 % hy) wäre er dagegen in die Gruppe der mesophilen Arten einzureihen. Da für einen Vergleich mit den hier interessierenden Pilzen *Dothichiza populea* und *Cytospora chrysosperma* Angaben über die Hydraturminima der Keimung dieser Pilze fehlen, muß sich dieser auf die Feuchtigkeitsansprüche des Myzelwachstums beschränken. Nach den Untersuchungen von HERMANN (1956) liegt hierfür das Hydraturminimum von *Dothichiza populea* bei 85,6 % hy, also sehr nahe dem für *Septotis populiperda* festgestellten (zwischen 88 % und 86 % hy), während *Cytospora chrysosperma* mit einem Hydraturminimum von 78,8 % hy wesentlich geringere Feuchtigkeitsansprüche als *Septotis* stellt. Diese Feststellungen sind insofern bemerkenswert, als die Myzelwachstumskurven von *Septotis populiperda* (Abb. 4) und *Cytospora chrysosperma* grundsätzlich darin übereinstimmen, daß beide Optimumkurven sind, während bei *Dothichiza* nach HERMANN das Hydraturoptimum gleich dem Hydraturmaximum, also gleich 100 % hy ist.

Der Tatsache, daß *Cytospora chrysosperma* die geringsten Feuchtigkeitsansprüche stellt, entspricht andererseits, daß ihr Temperaturoptimum am höchsten liegt (+ 28 °C). *Dothichiza* nimmt hier mit + 23 °C eine Mittelstellung ein, während *Septotis* mit + 19 °C am niedrigsten liegt. *Septotis populiperda* stellt somit von diesen drei Pappelparasiten die höchsten Feuchtigkeits- und, mit einer kleinen Einschränkung, die niedrigsten Temperaturansprüche. Diese Einschränkung ergibt sich daraus, daß das Temperaturminimum für *Septotis* zwischen 0 ° und + 2 °C gefunden wurde, während HERMANN dieses sowohl für *Dothichiza* als auch für *Cytospora* zwischen — 2 ° und 0 °C ermittelt hat, obwohl deren Temperaturoptima wesentlich höher liegen als dasjenige von *Septotis*.

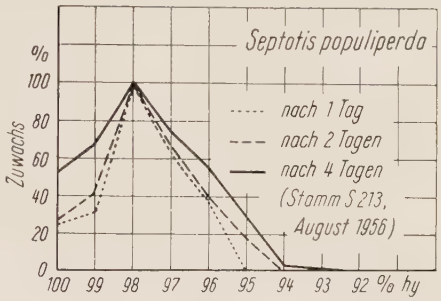


Abb. 4. Myzelwachstum in Abhängigkeit von der Hydratur (hy). Zuwachs dargestellt in Prozenten des Zuwachses bei optimaler Hydratur

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen sprechen darüber hinaus nicht dafür, daß *Septotis populiperda* zur optimalen Keimung tropfbar flüssiges Wasser benötigt; denn in feuchter Luft auf Malzagar waren sowohl die Keimungsgeschwindigkeit trockener Sporen als auch die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche größer als in Rohrzuckerlösungen und in destilliertem Wasser. Es wäre jedoch denkbar, daß der Pilz ein starkes Sauerstoffbedürfnis besitzt und aus diesem Grunde in den Lösungen schlechter keimt als in feuchter Luft.

Zusammenfassung

Um den Einfluß von Hydratur und Temperatur auf die Keimung der Konidien und das Myzelwachstum von *Septotis populiperda* Waterman et Cash zu ermitteln, wurden Versuche mit Reinkulturen im Laboratorium durchgeführt, welche folgendes ergaben:

1. *Septotis populiperda* stellt relativ hohe Feuchtigkeitsansprüche. Die Konidien keimen auf Malzagar am schnellsten bei 99 % und 98 % hy. Sowohl für die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche als auch für das Myzelwachstum wurde ein Optimum bei 98 % hy gefunden.

Das Hydraturminimum der Keimung liegt auf Malzagar zwischen 92 % und 90 % hy, in Rohrzuckerlösung dagegen zwischen 90 % und 88 % hy. Dasjenige für das Myzelwachstum auf Malzagar zwischen 88 % und 86 % hy.

2. Das Temperaturoptimum liegt für die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche bei + 21 °C und für das Myzelwachstum bei + 19 °C. Das Minimum für das Myzelwachstum liegt zwischen 0 °C und + 2 °C, das Maximum zwischen + 28 ° und + 32 °C. Mit zunehmender Kulturdauer der Stämme auf Malzagar wird der thermische Wachstumsbereich kleiner.

3. Ungekochter Pappelblattextrakt hat in verschiedenen Verdünnungen keine Förderung der Sporenkeimung bewirkt.

Summary

In order to determine the influence of humidity and temperature on the germination of the conidia and on the growth of the mycelium of *Septotis populiperda Waterman* et Cash, experiments with pure cultures were carried out in the laboratory and the following results obtained:

1. *Septotis populiperda* has relatively high moisture requirements. The conidia germinate on malt agar most rapidly at 99 % and 98 % humidity. Both for the growth rate of the germ tubes and for mycelial growth the optimum was found to be 98 % humidity.

The minimum humidity for germination on malt agar lies between 92 % and 90 %, whereas in cane sugar solution it is between 90 % and 88 % humidity. The minimum for mycelial growth on malt agar is between 88 % and 86 % humidity.

2. The optimum temperature for growth rate of the germ tubes is + 21 °C and for mycelial growth + 19 °C. The minimum for mycelial growth lies between 0 °C and + 2 °C, the maximum between + 28 °C and + 32 °C. With increasing time of culturing the strains on malt agar the range of possible temperatures diminishes.

3. Unboiled poplar leaf extract at various concentrations had no effect in stimulating spore germination.

Literaturverzeichnis

Burcik, E., 1950: Über die Beziehungen zwischen Hydratur und Wachstum bei Bakterien und Hefen. Arch. Mikrobiol. **15**, 203—235.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel. 2. Aufl.

Heintzeler, J., 1939: Das Wachstum der Schimmelpilze in Abhängigkeit von den Hydraturverhältnissen. Arch. Mikrobiol. **10**, 93.

Hermann, G., 1956: Beiträge zur Physiologie von *Dothichiza populea* Sacc. et Br. und *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. im Hinblick auf deren parasitisches Verhalten. Diss. Göttingen.

Johannes, H., 1950: Ein Pappelsterben, hervorgerufen durch den Pilz *Septogloeum populiperdum* sp. n. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **2**, 67—69.

— —, 1951: *Septogloeum populiperdum* sp. n. als Erreger eines Pappelsterbens. Phytopath. Z. **17**, 406—410.

Schmidle, A., 1953: Über eine Blattkrankheit der Pappel. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) **5**, 81—83.

— —, 1955: Über Infektionsversuche mit *Septotis populiperda* Waterman et Cash an *Populus deltoides*. Angew. Bot. **29**, 14—25.

Tomkins, R. G., 1930: Studies of the growth of moulds I. Proc. Roy. Soc. London Ser. B **105**, 375—401.

Van den Ende, G., 1952: En bladvlekkenziekte voorkomend op de populieren, veroorzaakt door *Septotinia populiperda* Waterman et Cash. T. Plantenziekten **58**, 54—59.

— —, 1954: Het parasitaire karakter van *Septoninia populiperda* Waterman et Cash. T. Plantenziekten **60**, 253—255.

Walter, H., 1924: Plasmaquellung und Wachstum. Z. Bot. **16**, 353.

— —, 1931: Die Hydratur der Pflanze und ihre physiologisch-ökologische Bedeutung. Jena. 174 S.

— —, 1950: Grundlagen des Pflanzenlebens. Stuttgart. 3. Aufl.

Waterman, A. M., and E. K. Cash, 1950: Leaf blotch of poplar caused by a new species of *Septotinia*. Mycologia **42**, 374—384.

Aus dem Institut für Angewandte Zoologie der Universität Würzburg

Vorstand: Prof. Dr. K. Gößwald

Untersuchungen über Saugtätigkeit und Schadwirkung der Sitkafichtenlaus *Liosomaphis abietina* (Walk.) (*Neomyzaphis abietina* Walk.)

Von

W. Kloft und P. Ehrhardt

Mit 4 Abbildungen

Einleitung

Infolge des erstmaligen Massenbefalls von *Liosomaphis abietina* (Walk.) in den Fichtenbeständen Nordwestdeutschlands, Dänemarks und Hollands wurde dieser bisher in der deutschsprachigen Literatur wenig beachtete Schädling von verschiedener Seite bearbeitet. Eingehende Darstellungen der Biologie, des äußeren Schadbildes sowie des Ablaufes der Gradation in den Jahren 1957 bis 1959 finden sich bei Schwerdtfeger (1957), v. Scheller (1958) und Ohnesorge (1958), wobei vor allem in der letztgenannten Arbeit eine Zusammenfassung des bisher über *L. abietina* Bekannten gegeben wird.

Zweck der vorliegenden Untersuchung war es, vor allem die bisher weitgehend unbekannten Wechselbeziehungen zwischen Laus und Wirtspflanze aufzuklären. Nur bei genauer Kenntnis des phytopathologischen Wirkungsmechanismus wird es möglich sein, die Art forstwirtschaftlich richtig zu bewerten und geeignete Gegenmaßnahmen zu treffen. Die mitgeteilten Befunde stellen zunächst nur die vorläufigen Ergebnisse unserer Untersuchungen dar, ihre Veröffentlichung erscheint aber überaus dringlich, da 1959 mit einem erneuten Massenbefall gerechnet werden muß.

Im Verlauf unserer Untersuchungen besuchten wir zur Materialentnahme verschiedentlich Befallsgebiete in Schleswig-Holstein, Dänemark (Jütland), im westlichen Niedersachsen (Forstamt Cloppenburg) sowie in Westfalen entlang der holländischen Grenze. Zur Zeit des sommerlichen Minimums konnten im August 1958 in Schleswig-Holstein nur vereinzelt Läuse festgestellt werden. Hingegen waren Ende September 1958 im Forstamt Cloppenburg sowie im Forstgut Ammeloe des Landschaftsverbandes Westfalen-Lippe bereits wieder recht erhebliche Befallsdichten erreicht. Anfang Januar war in einem Fichtenbestand westlich von Flensburg, der seit August 1958

unter Kontrolle stand, ein leichtes Ansteigen sowie eine zunehmende Verbreitung des Befalls zu verzeichnen. Am 7. bis 8. März 1959 fand eine erneute Kontrolle bei Ammeloe statt, die bereits in dieser frühen Jahreszeit eine besorgniserregend hohe Populationsdichte ergab. Es waren zum Teil stark befallene Bäume zu finden (4 bis 5 Läuse je Nadel), das Vorhandensein von Jungläusen deutete auf lebhafte parthenogenetische Fortpflanzung hin. Infolge Durchforstung des unbesuchten 40jährigen Bestandes konnte auch in den Kronen der frischgefällten Sitkafichten von 15 m Höhe kräftiger Befall gefunden werden. Der milde Verlauf des vergangenen Winters hat offenbar den Läusen eine fortlaufende Vermehrung ermöglicht, so daß zu Beginn der Vegetationszeit eine gefährlich hohe Ausgangspopulation vorhanden ist.

Für freundliche Unterstützung unserer Arbeiten sind wir Herrn Professor Dr. F. SCHWERDTFEGER und Herrn Dr. B. OHNESORGE zu großem Dank verpflichtet. Herrn Professor GÖSSWALD möchten wir für die ständige Förderung der Untersuchungen, den Herren Kollegen H. KUNKEL und M. ABARCA für ihre Mithilfe vielmals danken.

1. Die Laborzucht von *L. abietina*

Voraussetzung für die Durchführung unserer Untersuchungen war, daß stets Versuchstiere in genügender Zahl zur Verfügung standen. Es wurde daher eine Dauerlaborzucht der Sitkafichtenlaus eingerichtet. Zunächst wurde

Abb. 1. Eingetopfte Sitkafichten zur Dauermassenzucht von *L. abietina* im Pflanzenraum des Instituts für Angewandte Zoologie Photo: Dr. Klee

dabei die von Ohnesorge (1959) angegebene Methode der Zucht auf abgeschnittenen in Wasser stehenden *Picea*-Zweigen verwendet. Da die ständige Übertragung auf frische Zweige mühevoll und mit Verlusten verbunden ist, gingen wir ab Oktober 1958 dazu über, in einem Pflanzenraum unter Langtagsbedingungen (12stündige Dauerbeleuchtung mit Tageslicht-Röhren von Philips) und weitgehend konstanter Temperatur (20 °C) sowie relativer Luftfeuchtigkeit (65 bis 70 %) die Läuse auf 6- bis 8jährigen eingetopften Rot- und Sitkafichten zu züchten (Abb. 1). Dadurch war es ohne weiteres möglich, während des ganzen Winters mit relativ geringem Arbeitsaufwand ausreichendes Material heranzuziehen. Da *Picea excelsa* bezogene Nadeln nicht so rasch abwirft wie *P. sitchensis*, wurden für die Dauerzucht Rotfichten bevorzugt, Sitkafichten jeweils nur für Spezialversuche infiziert. Übertragungen erfolgten durch Auflegen befallener Zweige. Als sehr wichtig erwies sich täglich zweimaliges Besprühen der Bäume mit fein zerstäubtem Wasser. Während der bis jetzt 6 Monate durchgeführten Zucht treten lediglich vivipare ungeflügelte Virgines auf; weder geflügelte Virgines, Sexuales, noch Eiablagen konnten beobachtet werden. Parasiten und Krankheiten sind noch nicht aufgetreten.

Die im Rahmen der Untersuchungen verwandte Methodik wird jeweils bei den einzelnen Abschnitten kurz behandelt.

2. Saugverhalten und besogenes Gewebe

Die Sitkafichtenlaus saugt auf der Unter- und Oberseite der Nadel. Wie Tausende von Nadelquerschnitten ergaben, erfolgt der Einstich stets durch Spaltöffnungen (Abb. 2). Da die Nadelunterseite reicher an solchen ist, ergibt sich rein statistisch eine Bevorzugung derselben beim Anstich. Zur Herstellung der Schnitte wurden die auf den Nadeln saugenden Läuse mit CO_2 narkotisiert und beides zusammen in einem Spezialgemisch (Carnoy-Alkohol 1 : 1, 80 °C) fixiert. Es wurden Paraffinschnitte hergestellt, die Färbung der Speichelscheiden erfolgte nach Rawitscher (1933) (Membrangegenfärbung mit Orange G), sowie mit Safranin (Gegenfärbung Lichtgrün).

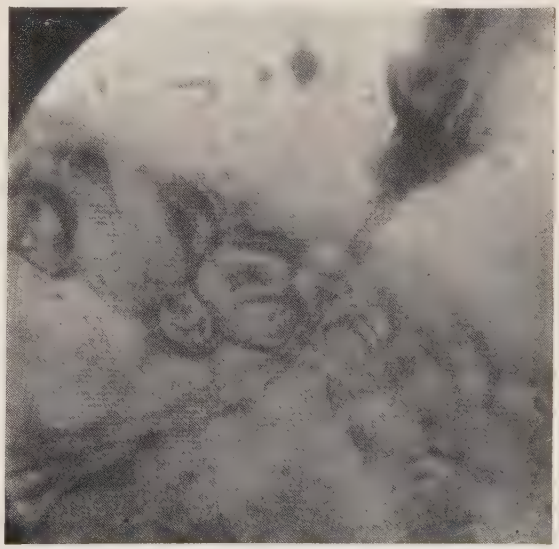
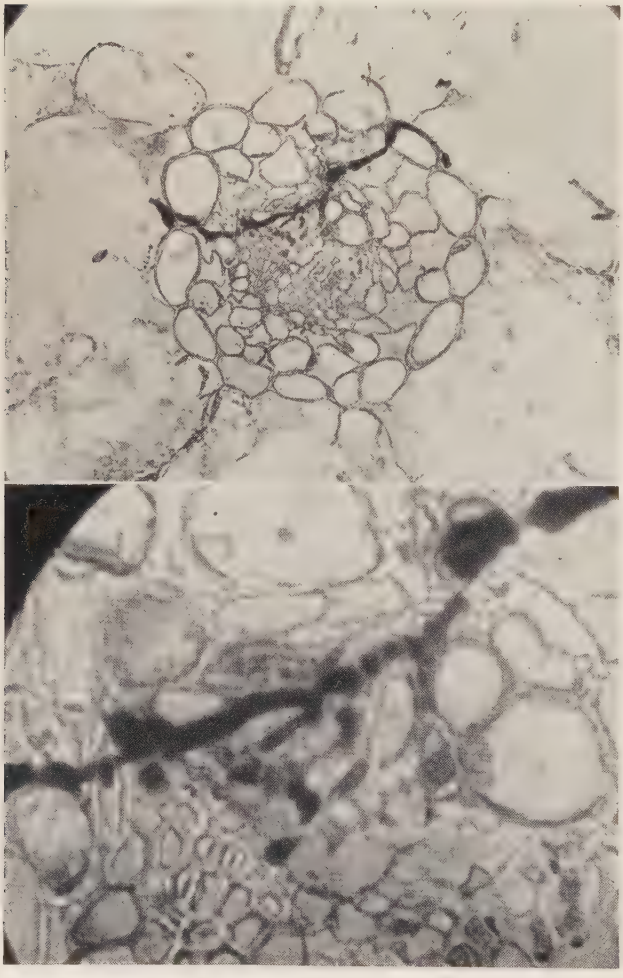


Abb. 2. Einstich durch Spaltöffnung mit Rüssel und Stechborstenbündel Mikrophoto: Dr. Klee

Das Assimilationsparenchym wird inter- und intrazellular durchdrungen.

Das zentral gelegene Leitbündel kann nur erreicht werden nach Durchdringung der Endodermis und des zwischen dieser und dem Leitbündel liegenden Transfusionsparenchyms. Die Endodermis wird unter reichlicher Speichelausschüttung intrazellulär durchstochen. Es darf vermutet werden, daß bei der Durchsetzung der kräftig ausgebildeten Zellen der Speichel eine Rolle spielt. Das Transfusionsgewebe wird ebenfalls intrazellular durchstochen und das Stechborstenbündel erreicht auf diese Weise direkt das Phloem. In diesem werden einzelne Zellen angestochen. Die Spitze der Stilette endet im Zellumen. Die Speichelscheide zeigt des öfteren zahlreiche Verzweigungen innerhalb des Phloems (Abb. 3 a) und zum Teil auch des Transfusionsparenchyms, was darauf hinweist, daß die Laus in der Lage ist, verschiedene Siebröhren anzustechen, ohne den Rüssel aus der Nadel herauszuziehen. Dies stimmt mit unseren Beobachtungen überein, nach denen die Läuse tagelang an derselben Stelle saugen. Sogar beim Absetzen von Junglarven wird der Rüssel nicht aus der Nadel gezogen. Der Anstich des Phloems scheint nicht von einer bevorzugten Seite aus zu geschehen. Es wurde z. B. beobachtet, daß der Stich zunächst auf das Xylem zielt, dann dieses umgeht oder sogar am Rande durchdringt. Der Anstich erfolgt also wahllos von den Seiten, von oben oder unter her. Die Speichelscheide ist meist kräftig und re-



a

b

Abb. 3. Querschnitt durch eine Nadel von *P. sitchensis* im Bereich des zentralen, von Transfusionsparenchym und Endodermis umgebenen Leitbündels

a) Speichelscheiden, die von außen her die Endodermis und das Transfusionsparenchym durchdringen und sich im Phloem verzweigen

b) Vergrößerung aus Abb. a im Bereich des Leitbündels

Mikrophoto: Dr. Klee

gelmäßig ausgebildet, besonders im Bereich der Endodermis, des Transfusionsparenchyms und des Phloems; es wurden sogar Zellen gefunden, die weitgehend mit Speichel angefüllt erschienen (Abb. 3 b). Die Speichelscheide ist in interzellularen Bereichen regelmäßig zylindrisch ausgebildet, während sie in den Zellen in Form von Kügelchen oder Zusammenballungen erscheint. Offenbar hängt dies mit der koagulierenden Wirkung auf die Zellinhaltsstoffe zusammen.

Die Sitkafichtenlaus darf also als typischer Phloemsauger angesprochen werden. Dies stimmt überein mit der rel. großen Menge von Honigtau, die von den Läusen ausgeschieden wird, welche aber bis jetzt infolge der Kleinheit der Tiere nicht besonders beachtet wurde. Die Läuse entledigen sich wie die Lachniden des Honigtaues durch Abschleudern der Tröpfchen. Da sie aber auf den Nadeln und meist auf abstehenden Zweigen saugen, fällt der Honigtau zu Boden und ist schwer sichtbar.

3. Über Sekretion und Zusammensetzung des Speichels

Zur Frage der Speichelinjektion in die Pflanze wurden Versuche mit radioaktiv markierten Sitkafichtenläusen durchgeführt. Den Läusen wurde auf dem Wege über abgeschnittene, in eine Lösung von $Na_3P^{32}O_4$ (spezifische Aktivität 1 mC/ml) gestellte Fichtenzweige die Radioaktivität zugeführt. Nach einer genügenden Zeitspanne, in der das Phosphat in alle Gewebe der Pflanze eingelagert war, wurden die Läuse aufgesetzt. Nach rund 24 Stunden hatten die Läuse eine maximale Aktivität erreicht und konnten dann auf nicht radioaktive, frische Nadeln übertragen werden. Der beim Anstich in die Nadel abgegebene radioaktive Speichel wurde mittels Autoradiographie sowie durch Impulsmessungen nachgewiesen. Die Messungen ergaben Hinweise darauf, daß der Sekretionsmechanismus des Speichels mit dem von *Myzus ascalonicus* übereinstimmt (Kloft 1956 a, b, 1958), also für einen Phloemsauger typisch ist.

Besonderer Wert wurde auf eine Analyse der Speichelinhaltsstoffe gelegt. Untersuchungen bei *Myzus ascalonicus* Donc. und Wanzen (Kloft 1956 b, 1958, Marek und Kloft 1956) sowie von *Schizodryobius*-Arten (Ehrhardt, unpubl.) hatten ergeben, daß freie Aminosäuren in rel. reichlicher Menge im Speichel vorhanden sind und daß diesen eine besondere phytopathologische Bedeutung zukommt. Später konnte Anders (1958) bei der Reblaus diese Befunde bestätigen und den Aminosäuren des Speichels dieser Art cecidogene Wirkung zuschreiben.

Eine präparative Gewinnung des Speichels erwies sich bei der Kleinheit der Speicheldrüsen ohne Verletzung des Drüsengewebes als nicht möglich. Deswegen wurden die Läuse bei Grünlicht auf angefeuchtetem Chromatographiepapier zum Anstich veranlaßt. Daß dabei Speichel in das Papier deponiert wird, ließ sich autoradiographisch mit radioaktiv markierten Läusen beweisen. Zudem konnte an der Stichstelle auf dem Papier eine deutliche Reaktion mit Ninhydrin erzielt werden.

Die papierchromatographische Trennung ergab eine ungewöhnlich hohe Zahl von freien Aminosäuren: Alanin, l-Arginin, l-Asparaginsäure, Cystin, l-Leucin, Serin und Valin. Untersuchungen über weitere Speichelinhaltsstoffe sind noch im Gange.

4. Wirkungen der Saugtätigkeit auf das Pflanzengewebe

a) Zeitablauf der Entwicklung des Schadbildes

Das äußere Schadbild, vor allem gekennzeichnet durch chlorotische Flecke im Stichbereich sowie allmählich folgende völlige Gelb- bzw. Braunfärbung der zuletzt meist abfallenden Nadel wurde wiederholt beschrieben (DUMBLETON 1932, OHNESORGE 1958, KLOFT und EHRHARDT 1959). Da jedoch exakte Angaben über den zeitlichen Ablauf der Entstehung dieses typischen Schadbildes erwünscht sind, wurden hierzu Versuche durchgeführt. Wir konnten feststellen, daß nach Anstechen von Imagines bei *Picea sitchensis* die chlorotischen Flecke im Stichbereich nach durchschnittlich 8 bis 10 Tagen auftreten. Bei Versuchen mit Larven zeigten sich die Flecke bereits nach 5 bis 6 Tagen. Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte, da das Auftreten der Symptome vom physiologischen Zustand der Nadeln abhängig sein dürfte. Bei *P. excelsa* dauert es durchschnittlich 4 bis 6 Tage länger bis zum Auftreten der ersten äußerlichen Schadsymptome.

Weiterhin wurde überprüft, welche Mindestsaugzeit einer Laus erforderlich ist, um im Stichbereich die typischen Flecke entstehen zu lassen. Nimmt man die Läuse-Imagines nach einer Saugzeit von weniger als 20 h von der Nadel ab, so tritt kein Symptom auf. Bei Saugzeiten von mehr als 20 bis 24 h entwickelt sich nach Ablauf der oben genannten Zeit das typische äußere Schadbild. Bei Junglarven tritt diese Erscheinung bereits nach nur 12 bis 14stündiger Mindestsaugzeit ein.

Das zeitlich exakt definierbare Auftreten eines äußerlich sichtbaren Krankheitsbildes ermöglicht es, die in der allgemeinen Phytopathologie zunächst für pathogene Mikroorganismen gebräuchlichen Termini (GÄUMANN 1951) auf tierische Krankheitserreger zu übertragen. Der genau festlegbare Anstich des Tieres läßt sich mit der I n f e k t i o n vergleichen, der vom Anstich bis zum ersten Auftreten des sichtbaren Krankheitsbildes ablaufende Zeitraum als I n k u b a t i o n s z e i t bezeichnen. Demzufolge wäre im vorliegenden Falle die Angabe der „Inkubationszeit" für die Anfälligkeit bzw. Resistenz ein für die verschiedenen *Picea*-Arten bzw. Provenienzen wichtiges Kriterium.

In Anlehnung an NOLTE (1952) wurde überprüft, ob Zweige durch Einstellen in Extrakte von Sitkafichtenläusen ebenfalls die typischen Schädigungen erkennen lassen. 50 Sitkaläuse (Imagines) wurden in 3 ml Aqua dest. homogenisiert und 24 h bei 4 °C extrahiert. Nach Filtration wurden in diese Flüssigkeit abgeschnittene Sitkafichten-Triebe eingestellt; zur Kontrolle dienten gleichartige in Wasser gestellte Zweige. Nach der oben erwähnten Inkubationszeit von rund 10 Tagen treten zunächst an den oberen, kurze Zeit

später auch an den tieferen Nadeln die typischen Symptome wie Chlorose und anschließend Braunfärbung der Nadeln auf. Die Kontrollzweige behalten unverändert grüne Nadeln. Es darf damit gerechnet werden, daß der toxische Stoff aus den Extrakten aufgenommen wird, jedoch können Fehlermöglichkeiten (z. B. Wachstum von Mikroorganismen im Extrakt) nicht ausgeschlossen werden.

b) Zur Frage der stoffwechselphysiologischen Beeinflussung besogener Nadeln

Der Phosphorstoffwechsel ist ein wesentliches Kriterium für die physiologische Aktivität eines Gewebes. Im Zusammenhange mit dem Angriff von Parasiten ergeben sich bei den befallenen Pflanzenteilen Veränderungen des Phosphatstoffwechsels. So konnte bei Aphidenbefall eine Erhöhung der Phosphatasenaktivität (Kloft 1958, Ehrhardt, unpubl.) im besogenen Gewebe festgestellt werden. Bei Applikation anorganischen Radiophosphats erzielten Shaw, Brown und Jones (1954) bei pilzinfizierten Weizenblättern im Infektionsbereich eine verstärkte Einlagerung von markiertem P.

Bei unserer Untersuchung wurden Zweige mit Nadeln verschiedener Schädigungsgrade in eine Lösung mit Radiophosphat (P^{32}, spez. Akt. 1 mC/ml) eingestellt. An Hand von Autoradiographien konnte festgestellt werden, daß im Bereich der chlorotischen Flecke wesentlich weniger P^{32} eingelagert

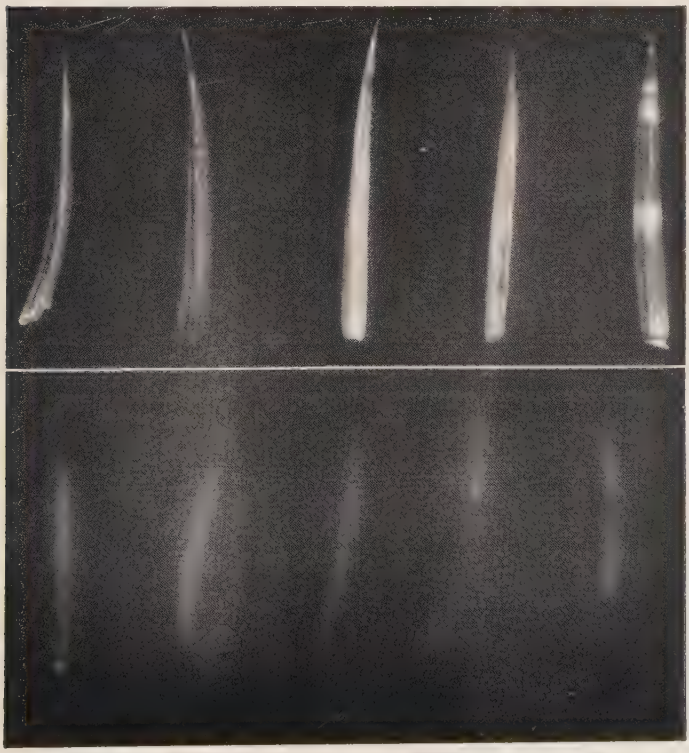


Abb. 4. Unten Autoradiographie, oben Photographie von Nadeln der Sitkafichte mit verschiedenen Schädigungsgraden. Die Nadeln 1 und 2 sind unbefallen und zeigen gleichmäßig kräftige Einlagerung von P^{32}. Nadeln 3 und 4 stark geschädigt, verminderte P^{32}-Einlagerung. An Nadel 5 ist die bänderartige Fleckung durch verminderte Einlagerung von P^{32} auf der Autoradiographie zu erkennen

wurde als in ungeschädigten Nadelpartien (Abb. 4). Im vorliegenden Falle handelt es sich um eine Untersuchung an bereits stark geschädigten Geweben. Es darf angenommen werden, daß zu Beginn des Befalles zunächst ein erhöhter P-Umsatz im Stichbereich stattfindet. Darauf deuten auch die mit dem Warburg-Gerät durchgeführten Gasstoffwechsel-Untersuchungen hin.

Zusammen mit den Stielchen am Trieb abgezogene Nadeln von *P. sitchensis* wurden nach Entfernung der Läuse in Warburgtröge von 5ml Volumen eingelegt. Je Versuchsgefäß wurden 10 Nadeln gleichen Alters und Befallsgrades verwendet, deren Frischgewicht auf der Analysenwaage auf $^1/_{10}$ mg genau ermittelt worden war. Die Respirationsmessung erfolgte im Dunkeln nach der direkten Eingas-Methode. Zur Assimilationsbestimmung wurden die Gefäße von unten her beleuchtet. Sie enthielten Pardee-Puffer im Einsatz, der nach HENSSEN (1954) hergestellt wurde. Bei Berechnung des Gasumsatzes wurde das Verhältnis $\frac{X_{CO_2}}{X_{O_2}}$ wie meist üblich als — 1 angenommen.

Es wurden befallene Nadeln mit verschieden weit entwickelten Schadsymptomen im Vergleich zu gesunden, gleichaltrigen Nadeln gemessen. Es stellte sich heraus, daß bereits bei frischem Befall (ohne chlorotische Flecke) die Respiration durchschnittlich um 39 % gegenüber den Kontrollen erhöht ist. Bei fortgeschrittener Ausbildung der Symptome steigert sich die Respiration auf insgesamt 195 % des Normalwertes. Während die Assimilation bei frisch befallenen Nadeln keinen signifikanten Unterschied gegenüber gesunden zeigte, lagen die Werte bei mittelstarker Schädigung um durchschnittlich 35 %, bei starker Schädigung sogar um 75 % tiefer.

Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse

Die histologische Untersuchung zahlreicher befallener Nadeln ergab eindeutig, daß *Liosomaphis abietina* (Walk.) das Phloem ansticht und diesem seine Nahrung entzieht. Die chlorotischen Flecke entstehen jedoch durch Zerfall der Chloroplasten im außerhalb der Endodermis gelegenen Assimilationsparenchym. Gleichzeitig ist damit eine Verminderung des Eiweißgehaltes der Parenchymzellen verbunden, wie histochemische Reaktionen erkennen ließen. Diese Effekte sind nicht auf Nahrungsentzug aus dem Parenchym zurückführbar. Sie werden vermutlich durch toxische Inhaltsstoffe des Speichels hervorgerufen, was evtl. ihre Deutung als antitoxische Abwehrreaktion im Sinne GÄUMANNS (1951) zuläßt. Darauf deutet auch die bänderartige Abgrenzung der Vergilbung hin, jedoch sind weitere Untersuchungen über die Speichelausbreitung sowie die Möglichkeit von Demarkationsreaktionen erforderlich. In diesem Zusammenhange ist eine vergleichende Untersuchung der verschiedenen *Picea*-Arten wünschenswert, um deren unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegen die Sitkafichtenlaus genau erfassen zu können. So ergab die Untersuchung von *P. excelsa*, daß hier die Inkubationszeit länger ist

als bei *P. sitchensis*, während *P. Omorica* noch unempfindlicher ist (Ohnesorge (1959). Die verschiedentlich von uns im Freiland gemachte Beobachtung, daß einzelne Sitkafichten nicht befallen werden, deutet darauf hin, daß den zunächst noch unbekannten und graduell verschiedenen Resistenzfaktoren der unempfindlichen Arten bzw. einzelner Bäume besondere Aufmerksamkeit zugewendet werden muß.

Die Untersuchung der Respiration sowie Photosyntheseleistung besogener Nadeln von *P. sitchensis* zeigte, daß neben einer erheblichen Respirations-Steigerung vor allem die Assimilation je nach Schädigungsgrad sehr stark gedrosselt wird. Somit tritt bereits vor dem Absterben und Abfallen der Nadeln eine sehr wesentliche Verschlechterung der Stoffwechselbilanz des Baumes ein. Die Tatsache, daß auch *P. excelsa* auf Grund unserer Messungen durchaus keine geringeren Gasstoffwechsel-Reaktionen als *P. sitchensis* zeigt, unterstreicht nur die Gefährlichkeit der Laus auch für diese *Picea*-Art. Die Ausdehnung solcher Untersuchungen auf die waldbaulich wichtigsten anderen *Picea*-Arten ist dringend erforderlich.

Ein besonders auffälliger Befund war die Verkürzung der Inkubationszeit und Mindestsaugzeit bei Nadeln, die von Junglarven besogen waren. Die größere Aggressivität der Junglarven beruht möglicherweise auf qualitativ bzw. quantitativ anderer Zusammensetzung des Speichels. Zunächst wurde dieser lediglich bei Imagines auf freie Aminosäuren untersucht, die Auffindung von insgesamt 7 freien Aminosäuren ist die höchste bisher bei Aphiden nachgewiesene Zahl. Es ist vermutlich kein Zufall, daß dieser Reichtum an freien Aminosäuren mit der hohen Phytopathogenität der Art zusammenfällt, jedoch muß nach anderen wirksamen Komponenten im Speichel gesucht werden.

Summary

This paper deals briefly with investigations concerning the pathological consequences of the attack of *L. abietina* (Spruce Aphid) to conifers of the genus *Picea* in NW-Europe.

1. Using *Picea sitchensis* 5—6 years old under special long periods of illumination in the laboratory, it was possible to obtain a continuous breeding of *L. abietina*.

2. *L. abietina* stings directly through the stoma itself, pierces the parenchyma, and sucks out of the central phloem, consequently this species is able to produce honeydew.

3. The salivary secretion was investigated by means of Tracers. Through paper-chromatography analysis there were found seven amino-acids in the saliva of adults.

4. The incubation-period, in other words the time between stinging and the appearance of the first symptoms (chlorosis), as well as the minimum time the aphids have to suck in order to produce suck symptoms, were determined. Larvae are more aggressive than adults.

5. It was observed, that the uptake of P^{32} in damaged spots of needles is much decreased as compared with healthy, green parts.

6. With manometric methods there were compared the rates of respiration and photosynthesis between healthy and damaged needles, considering the different stages of damage. The respiration is increased while the photosynthesis is reduced considerably.

7. Since the susceptibility of the different species of the genus *Picea* to the Spruce Aphid is indeed very important in forestry, it is briefly discussed. Further investigations on the same problem are necessary.

Die Arbeiten wurden durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der wir auch an dieser Stelle unseren Dank sagen möchten.

Literaturverzeichnis

Anders, F., 1958: Aminosäuren als gallenerregende Stoffe der Reblaus (*Viteus [Phylloxera] vitifolii* Shimer). Experientia **14**, 62.

Dumbleton, L. J., 1932: Report on spruce-aphis investigation. New Zealand J. Sci. **13**, 207—220.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Basel.

Henssen, A., 1954: Die Dauerorgane von *Spirodella polyrrhiza* (L.) Schleid. in physiologischer Betrachtung. Flora **141**, 523—566.

Kloft, W., 1956 a: Beeinflussung der Atmung und Photosynthese von Pflanzengeweben durch Pflanzenläuse. Naturwissenschaften **43**, 65.

— —, 1956 b: Wechselwirkungen zwischen pflanzensaugenden Insekten und den von ihnen besogenen Pflanzengeweben. Habilitationsschrift, Würzburg, Z. angew. Ent. (im Druck).

— —, 1958: Untersuchungen über pflanzensaugende Insekten und Reaktionen des Wirtspflanzengewebes. Ber. Phys.-Med. Ges. Würzburg, **68**, 64—72.

— —, und P. Ehrhardt, 1959: Zur Sitkalaus-Kalamität in Nordwestdeutschland. Waldhygiene **3**, 47—49.

Marek, J., und W. Kloft, 1956: Die Wirkung von Stichen der Zwiebellaus *Myzus ascalonicus* Donc. auf die Wasserpermeabilität der Epidermiszellen von *Allium cepa*. Naturwissenschaften **43**, 65—66.

Nolte, H. W., 1952: Untersuchungen über die stofflichen Grundlagen bei Nematodenschäden. Mitt. Biol. Zentralanst. Berlin-Dahlem, H. **74**, 40—42.

Ohnesorge, B., 1959: Die Massenvermehrung der Sitkalaus *Liosomaphis abietina* (Walk.) — *Neomyzaphis abietina* (Walk.) in Nordwestdeutschland. Forstarchiv **30**, 73—78.

v. Scheller, H. D., 1958: Die Massenvermehrung der Sitkafichtenlaus *Elatobium* (= *Liosomaphis*) *abietina* Walk. in Nordwestdeutschland. Anz. Schädlingskde. **31**, 85—88.

Schwerdtfeger, F., 1957: Massenvermehrung der Sitkalaus. Der Bauernwald, Juni 1957.

Shaw, M., St. A. Brown and R. Jones, 1954: Uptake of radioactive carbon and phosphorus by parasitized leaves. Nature **173**, 768.

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Forstpflanzenkrankheiten, Hann. Münden

Eine Methode zur Bestimmung des Grades der Zerstörung von Fichtenholz durch *Fomes annosus* mit Hilfe des Mikroskopes[1])

Von

H. Zycha und W. Brand

Mit 4 Abbildungen

Der Wurzelschwamm *(Fomes annosus* Fr.) ist einer der weitestverbreiteten und wirtschaftlich bedeutsamsten Pilze, welche die Stämme der Nadelbäume, insbesondere Fichte und Kiefer, gefährden. Da dieser Pilz durch viele Jahre hindurch unerkannt im Inneren der Stämme zu wachsen vermag und die Beschädigung zumeist erst beim Fällen der Bäume festgestellt werden kann, sind unsere Kenntnisse über Infektion und Ausbreitung des Pilzes im Stamm sowie über die Faktoren, welche die Stammfäule beschleunigen oder hemmen, noch sehr gering.

Eine erfolgreiche Erforschung dieser Fragen setzt voraus, daß der Befallsgrad eines Baumes mit Sicherheit erkannt werden kann. Ist die Zerstörung des Holzes durch *Fomes annosus* bereits weit fortgeschritten, so zeigt sich das charakteristische Bild eines völligen faserigen Zerfalles. Die Frühstadien des Pilzangriffes sind jedoch wesentlich schwerer zu diagnostizieren. Auf Querschnitten durch befallene Stämme geben zwar Verfärbungen des Holzes gewisse Anhaltspunkte. Aber an kleineren Holzproben, wie man sie etwa aus einem noch wachsenden Stamm entnehmen könnte, versagt eine derartige Diagnose, da Art und Grad der Verfärbung nicht sicher genug zu erkennen sind. Für die frühzeitige Ermittlung eines Befalles und für eine Bestimmung der Schnelligkeit der Ausbreitung des Pilzes im Holz muß man daher noch andere Kriterien suchen, welche klare Meßwerte ergeben.

Es liegt nahe, den Abbaugrad des Holzes als absoluten Maßstab für einen Befall durch den Pilz zu werten und diesen auf chemischem Wege zu erfassen. Der quantitative Nachweis des Gehaltes an Zellulose oder anderen dem Pilzangriff unterliegenden Komponenten erfordert jedoch einen zu großen Arbeitsaufwand, wenn man Serienuntersuchungen durchführen will.

1) Untersuchungen im Rahmen eines Forschungsauftrages der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Fukuyama und Kavase (1954) bestimmten den Befallsgrad über die bei dem Pilzwachstum gebildeten Säuren, indem sie das Holz mit Natronlauge behandelten und dann die nicht verbrauchte Lauge zurücktitrierten. Diese Methode gibt aber gerade für die Anfangsstadien des Pilzangriffes keine zufriedenstellenden Zahlen. Wir selbst behandelten zunächst ebenfalls mit Natronlauge, versuchten aber den „Humusanteil" auf kolorimetrischem Wege zu bestimmen. Auch diese durch ihre Einfachheit zunächst bestechende Methode ergab jedoch so große Schwankungen der gemessenen Werte, daß sie für quantitative Untersuchungen nicht geeignet erscheint.

Die durch einen Pilzangriff verursachte Verminderung des spezifischen Gewichtes läßt sich nur dann als Maßstab verwenden, wenn genügend große Holzproben zur Verfügung stehen.

In zweiter Linie kommen physikalische Methoden in Betracht. Die Ermittlung des Ausziehwiderstandes von Nägeln oder Schrauben (z. B. Fukuyama und Kavase 1954 b, Saho 1953, Borup und Rennerfelt 1958) erfordert relativ große Holzproben und gibt bei den bedeutsamen Frühstadien der Holzfäulnis keine brauchbaren Werte.

Die Methode zur Prüfung der mechanischen Festigkeit, insbesondere die in ähnlichen Fällen bewährte Bruchschlagprüfung nach Trendelenburg (1940) geben zwar gerade auch bei geringem Zerstörungsgrad genaue Werte, doch fehlen hier, ebenso wie bei den bereits genannten Verfahren, die jeweils wichtigen Vergleichswerte. Abgesehen davon können auch diese Prüfungen nicht mit kleinen Proben durchgeführt werden.

Da somit keine geeignete Methode zur zahlenmäßigen Ermittlung des Pilzbefalles an Hand kleiner Holzproben vorlag, suchten wir nach einem neuen Verfahren. Die Hyphen der meisten holzzerstörenden Pilze wachsen nicht durch Tüpfel von Zelle zu Zelle, sondern durch selbst aufgelöste Wandstellen. Es schien daher nicht ausgeschlossen, daß man aus der Anzahl solcher „Bohrlöcher" je Zelle auf den Umfang der Myzelausbreitung und damit auch auf den Grad der Holzzerstörung schließen könnte. Diese Frage näher zu untersuchen war das Ziel der vorliegenden Arbeit.

1. Bohrlöcher in der Zellwand

Schon seit langem ist bekannt, daß holzzerstörende Pilze mit ihren Hyphen direkt von Zelle zu Zelle wachsen. Sie durchbohren dabei — wie z. B. Proctor (1941) zeigen konnte, auf rein chemischem Wege die verholzten Zellwände und hinterlassen dadurch selbst dann, wenn die Hyphe nicht mehr in Erscheinung tritt, das Bohrloch als Spur ihres Wachstums. Die Abbildungen 1 und 2 geben Tracheiden aus pilzbefallenem Holz wieder, in welchen solche Löcher zu erkennen und von den Hoftüpfeltori gut zu unterscheiden sind. Hubert (1924) hat das Vorkommen solcher Hyphendurchbrüche bei zahlreichen Arten holzzerstörender Pilze nachgewiesen. Wir konnten seine Liste, welche u. a. bei Bavendamm (1936) wiedergegeben ist, für einige Arten bestätigen und erweitern.

Bei Holzproben, welche durch folgende Pilze angegriffen waren, fanden wir Bohrlöcher:

Fomes annosus
Merulius lacrymans
Polyporus abietinus
P. Schweinitzii
P. sulfureus
Poria vaporaria
Trametes pini.

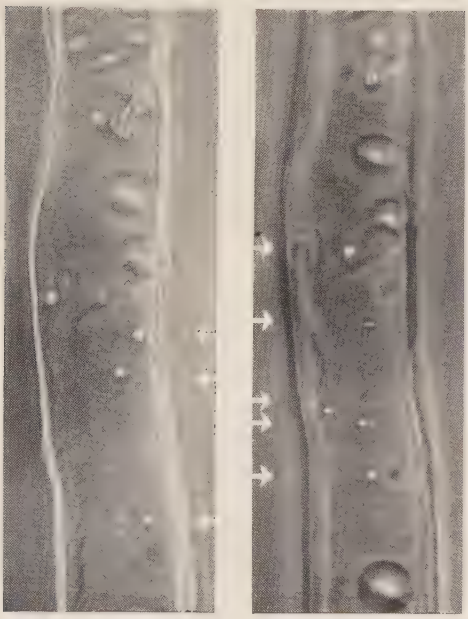


Abb. 1. Frühholztracheide mit Bohrlöchern und Hoftüpfeln; links hohe Einstellung, rechts tiefe Einstellung (Dunkelfeld)

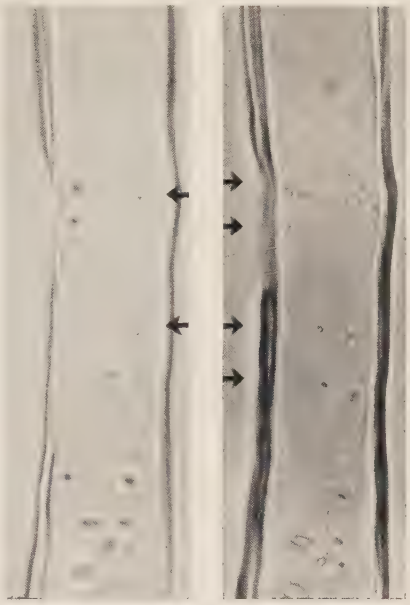


Abb. 2. Frühholztracheide mit Bohrlöchern und Hoftüpfeln; links hohe Einstellung, rechts tiefe Einstellung (Phasenkontrast)

In dem von *Coniophora cerebella* befallenen Holz fanden wir keine Bohrlöcher und ebensowenig bei *Lenzites sepiaria*, letzteres allerdings im Widerspruch zu HUBERT (1924).

Die Größe der Bohrlöcher richtet sich nicht direkt nach dem Hyphendurchmesser. Man findet ganz enge Löcher, in denen die Pilzhyphe eine Einschnürung aufweist und große, welche auf eine fortgeschrittene Zellwandauflösung hinweisen.

2. Präparation und Untersuchung der Holzproben

Zur Untersuchung der Holzelemente auf Hyphendurchbrüche erwies sich die Anfertigung von Schnitten als nicht so praktisch wie die Mazeration kleiner Holzproben, durch die auf einfache Weise zahlreiche Zellen ohne störende Schnittbruchstücke, Hyphen und dgl., unter dem Mikroskop untersucht

werden können. Zur Mazeration der Holzproben benutzten wir das von TRENDELENBURG (1939) empfohlene Gemisch aus gleichen Teilen 10 %iger Salpetersäure und 10 %iger wässriger Chromsäurelösung nach CHAMBERLAIN. Das Holz wurde dazu mit einem Messer in kleine Späne zerlegt und dann etwa 24 Stunden in dem Gemisch belassen. Eine geringfügige Über- oder Unterschreitung dieser Zeit erwies sich als nicht schädlich.

Nach der Mazeration wurden die Proben in Wasser übertragen, in dem sie leicht zerfielen. Von jeder solchen Holzprobe wurden mindestens zwei mikroskopische Präparate angefertigt und in jedem mindestens 13 Tracheidenabschnitte ungefärbt unter dem Mikroskop bei 8 × 40facher Vergrößerung untersucht. Da das Frühholz meist zuerst von dem Pilz befallen wird und in den Spätholztracheiden die Durchbrüche nur schwer zu finden sind, wurden nur Frühholztracheiden von 25 bis 70 μ Breite bewertet. Die Entstehung der gelegentlich beobachteten größeren Zellwand-Fehlstellen konnte nicht überprüft werden, weshalb nur die typischen durch den Hyphendurchgang entstandenen Bohrlöcher mit einem Durchmesser bis zu etwa 7,5 μ gezählt wurden. Bei der Bewertung wurde so vorgegangen, daß die Anzahl der Bohrlöcher je Tracheidenabschnitt von 410 μ (= Durchmesser des Gesichtsfeldes) gezählt wurde. Die so erhaltenen Zahlen wurden gemittelt und auf eine Tracheidenlänge von 1000 μ umgerechnet.

3. Versuchsmethode

Will man die Brauchbarkeit einer neuen Bewertungsmethode ermitteln, so muß man das Verfahren an Hand einer anderen Methode testen. Es muß also der Grad der Holzzerstörung noch auf eine andere bewährte Weise parallel festgestellt werden. Am einfachsten erschien es da, den durch das Pilzwachstum eingetretenen Gewichtsverlust des Holzes heranzuziehen. Da dies an natürlich befallenem Holz nicht möglich ist, wurde mit Holzproben gearbeitet, welche im Laboratorium der Einwirkung einer Reinkultur des Pilzes ausgesetzt waren. Dabei durften die verwendeten Holzprobekörper nicht zu groß sein, da sonst möglicherweise Außen- und Innenteil des Klötzchens zu unterschiedlich bewachsen werden und eine Integration, welche bei der Bestimmung des Gewichtsverlustes unumgänglich ist, für die Zahl der Hyphendurchbrüche praktisch mit zu großen Fehlern behaftet wäre.

Es wurde deshalb mit Probekörpern aus Fichtenholz in den folgenden Abmessungen gearbeitet:

Versuchsgruppe	Querschnitt	Länge parallel zur Holzfaser	Darrgewicht
„A“	9 × 9 mm	50 mm	etwa 1,8 g
„B“	7 × 16 mm	16 mm	etwa 0,9 g

Von Gruppe „A“ bildeten jeweils 8 Stück, von Gruppe „B“ jeweils 12 Stück das für eine Kulturschale vorgesehene Kollektiv. Jede solche Einheit

wurde bei 105 °C gedarrt, gewogen und dann zur Beschleunigung des Pilzwachstums mit einer 3 %igen Malzextraktlösung im Vakuum voll getränkt. Darauf wurden die Hölzchen in übliche Kolleschalen (12 cm ⌀) auf eine mit 5 bis 10 ml Wasser angefeuchtete Scheibe Filtrierpapier eingelegt und im Autoklav 1/2 Stunde bei 1 atü sterilisiert. Die so vorbereiteten Schalen wurden mit je 1 bis 2 ml einer Suspension von Konidiosporen möglichst gleichmäßig beimpft. Die Sporen stammten von einer etwa 14 Tage alten Reagenzglaskultur auf Malzagar (Stamm BF 6, 1955 aus Fichtenholz isoliert).

Alle Schalen wurden im Brutschrank bei 23 °C aufbewahrt. Nach Ablauf der jeweiligen Versuchszeit wurden die Klötzchen aus einer Schale entnommen, nach vorsichtiger Entfernung des oberflächlichen Pilzmyzels gemeinsam getrocknet und gewogen. Nachdem zum Anfangsgewicht 2 % für das erst nach der Wägung zugefügte Malz hinzugerechnet worden waren, wurde der jeweilige Gewichtsverlust in Prozent des Anfangsgewichtes errechnet.

4. Ergebnis der Versuche

Die Zerstörung des Holzes durch *Fomes annosus* erfolgt wesentlich langsamer als wir dies etwa bei *Merulius* oder *Coniophora* beobachten. Trotz der geringen Größe der Klötzchen, welche dem Pilz ein schnelleres Durchwachsen ermöglicht, ließ sich erst nach etwa 4 Wochen ein nennenswerter Gewichtsverlust feststellen und nach einer Versuchszeit von 19 Wochen betrug der Gewichtsverlust nur etwa 10 %. Innerhalb dieser Versuchszeit stieg der prozentuale Gewichtsverlust etwa proportional der Zeit an.

Die Zahl der je Tracheideneinheit gezählten Bohrlöcher weist auch innerhalb jeder Serie große Verschiedenheiten auf. Von jeder einzelnen Holzprobe wurden daher zwischen 100 und 200 Tracheidenabschnitte untersucht. Bestimmt man dann jedoch den mittleren Fehler (aus der Summe der Abweichungsquadrate), so schwankt dieser zwischen 0,5 und 1,5 Bohrlöcher je Millimeter Tracheide, so daß die im folgenden mitgeteilten Zahlen als signifikant betrach-

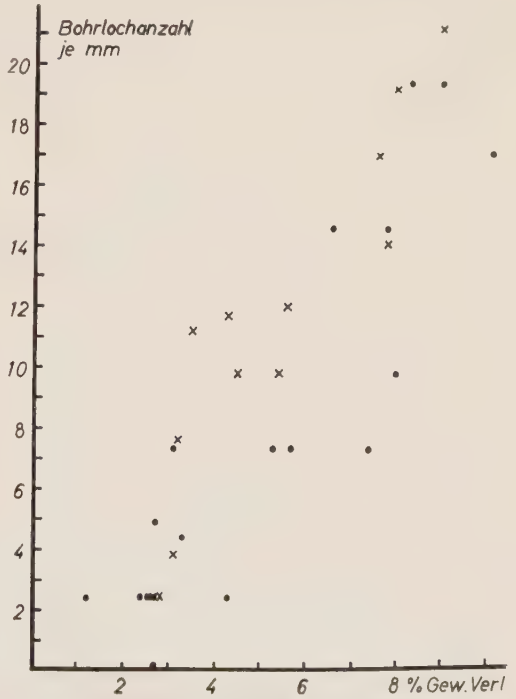


Abb. 3. Beziehung zwischen Bohrlochanzahl und Gewichtsverlust durch Holzangriff.
× = Serie „A"; ● = Serie „B"

tet werden können. Bestimmt man den Mittelwert für die Zahl der Bohrlöcher nach den verschiedenen Versuchszeiten, so sieht man, daß trotz aller Schwankungen die Zahlen ziemlich gleichmäßig ansteigen (Tab. 1). Setzt man nun den Gewichtsverlust und die Bohrlochzahl für jede einzelne Kolleschale zueinander in Beziehung, so erhält man die in Abbildung 3 wiedergegebene Punkteschar, aus der sich ergibt, daß innerhalb unserer Versuchsbedingungen die Holzzerstörung — gekennzeichnet durch den Gewichtsverlust — und die Zahl der Wanddurchbrüche proportional ansteigen. Bei der Serie „B" ist allerdings die Zahl der Bohrlöcher durchweg etwas geringer als bei „A". Dies mag seinen Grund darin haben, daß diese Klötzchen kürzer sind und der Pilz daher leichter von den angeschnittenen Tracheiden der Hirnenden ohne Wanddurchbruch eindringen und das Holz angreifen kann, während bei den „B"-Klötzchen erst ein weiterer Weg bis zu der geprüften Holzmitte zurückgelegt werden muß.

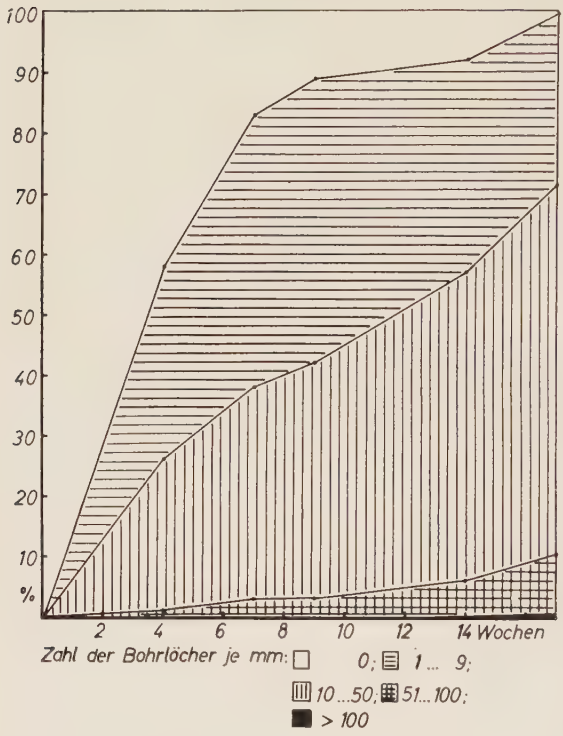


Abb. 4. Anteil der verschiedenen Befallsklassen in Abhängigkeit von der Dauer des Pilzangriffes

Tabelle 1

Untersuchung nach Wochen	Anzahl der Proben	Anzahl der untersuchten Tracheiden	Bohrlöcher je mm	Gewichtsverlust %
4	2	400	6,6	3,5
7	4	420	9,8	4,3
9	4	204	12	5,6
14	4	420	16,8	7,8
17	8	200	21,2	9,0

Serie „A", Mittelwerte für Bohrlochzahl und Gewichtsverlust.

Ein gutes Bild ergibt sich auch, wenn man alle ausgezählten Tracheidenabschnitte in Klassen einteilt und für jede Versuchsdauer den Anteil der verschiedenen Klassen in Prozenten ermittelt. Die folgende Tabelle gibt die Einzelwerte für die Serie „A" wieder.

Tabelle 2

Zahl der Bohrlöcher je mm Tracheide	Versuchszeit (Wochen) 4	7	9	14	17	—
	Anzahl der Abschnitte in % der untersuchten					
„A“: 0	42	17	11	8	0,5	
1 9	32	45	47	35	28	
10 50	25	35	39	51	61	
51 100	1	3	3	6	10	
> 100	0	0	0	(0,2)	0,5	

Zahl der Bohrlöcher je mm Tracheide	Versuchszeit (Wochen) 3	5	7	12	15	19
	Anzahl der Abschnitte in % der untersuchten					
„B“: 0	58	40	20	7	3	1
1 9	40	52	53	48	27	25
10 50	2	8	26	43	64	69
51 100	0	0	1	2	6	5
> 100	0	0	0	(0,3)	(0,4)	(0,4)

Die Werte für die „B“-Serie sind in Abbildung 4 graphisch dargestellt. Hieraus kann man gut entnehmen, daß der Pilz das Holz zunächst schnell unter Bildung von nur wenigen Wanddurchbrüchen durchwächst und sich dann die Zahl der Bohrlöcher nur langsam erhöht.

5. Praktische Anwendung der Ergebnisse

Aus den einleitenden Worten geht bereits hervor, daß die hier beschriebene Methode nicht geeignet ist zur Bestimmung der Pilzart. Die gefundenen Werte gelten zunächst nur für *Fomes annosus*. Erst weitere Untersuchungen könnten klären, ob etwa für gewisse Pilze das Verhältnis zwischen Holzabbau und Zahl der Wanddurchbrüche ein gleiches oder ein wesentlich anderes ist. Dem Verfahren sind auch insofern Grenzen gesetzt, als bei sehr hohen Bohrlochzahlen (über 60 je mm) nicht nur das Auszählen Schwierigkeiten bereitet, sondern auch bereits so viele Fehlstellen in den Tracheidenwandungen entstanden sind, daß die wahre Anzahl der Löcher überhaupt nicht mehr ermittelt werden kann. Die Methode scheint aber dazu geeignet, gerade jene Stadien des Holzangriffes zu erfassen, welche nicht infolge völligen Verlustes der Festigkeit bereits äußerlich leicht als „Fäule“ zu erkennen sind.

Um dies nachzuweisen, wurden Holzproben untersucht, welche von Fichtenstämmen mit Befall durch *Fomes annosus* stammten. Betrachtet man den Querschnitt eines von *F. annosus* befallenen Fichtenstammes, so findet man rings um eine völlig zerstörte Faulzone weitere Zonen, welche eine charakteristische Verfärbung aufweisen, worauf schon z. B. RENNERFELT (1946) und BJÖRKMAN (1949) hingewiesen haben. An das gesunde Holz grenzt nach innen zu eine bläulich gefärbte Zone, an diese anschließend eine gelblich verfärbte und weiter eine bräunliche, in der das Holz bereits deutlich sichtbar geschädigt ist. Verwendet man die von BJÖRKMAN (1949) angegebene Benennung und vergleicht man seinen Maßstab für die Holzzerstörung — Änderung des spezifischen Gewichtes — mit unserem Maßstab — Zahl der Wanddurchbrüche — so zeigt sich, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, eine sinngemäße Übereinstimmung.

Tabelle 3

	Holzprobe Nr.	Wanddurchbrüche je mm Tracheide				Abnahme des spezifischen Gewichtes n. BJÖRKMAN in %
		niedrigster Einzelwert	höchster Einzelwert	Mittelwert je Probe	Mittelwert je Zone	
Gesund		0	0	0	0	0
Farbzone	1	0	2	1,4		
	2	0	6	1,5	2,8	1
	3	0	5	2.5		
	4	0	10	5,8		
Helle Hartfäule	5	0	5	2,5		
	6	0	5	3,5		
	7	0	7	5.5	6,4	13
	8	0	9	9,3		
	9	0	9	9,7		
	10	0	22	7,9		
Dunkle Hartfäule	11	0	13	6,6		
	12	0	13	10,7		
	13	0	13	12,4	18,1	24
	14	0	25	17,6		
	15	1	24	26,5		
	16	2	29	34,9		
Weichfäule	—	—	—	—	—	42

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, nach welcher aus der Zahl der durch die Hyphen von *Fomes annosus* in den Frühholztracheiden verursachten Wanddurchbrüche auf den Grad des Holzangriffes geschlossen werden kann. Die Methode hat den Vorteil, daß kleinste Holzproben, insbesondere auch Bohrspäne aus lebenden Bäumen, geprüft werden können.

Summary

A method is described to determine the degree of a beginning destruction of wood by counting the holes, bored in the walls of tracheids by the hyphae of *Fomes annosus*. By this method it is possible to test little wood samples, f. ex. cores from increment borings.

Literaturverzeichnis

Bavendamm, W., 1936: Erkennen, Nachweis und Kultur der holzverfärbenden und holzzersetzenden Pilze. Abderhalden, Handb. biol. Arbeitsmeth., Abt. XII, 2, H. 7, 927—1134.

Björkman, E. und Mitarb., 1949: Om rötskador i granskog och deras betydelse vid framställning av kemisk pappersmassa och silkemassa (Decay injuries in spruce forests and their importance for the production of chemical paper pulp and rayon pulp). Kungl. Skogshögsk. Skr. Stockholm Nr. 4, 73 S.

Borup, L., und E. Rennerfelt, 1958: Vergleichende Untersuchungen über den Ausziehwiderstand von Nägeln in von Pilzen befallenem und in gesundem Kiefernsplintholz. Holz a. Roh- u. Werkst. **16**, 453—459.

Fukuyama, G., and K. Kavase, 1954 a: A simpler method for determining the degree of wood decay with dilute alkaline solution. Res. Bull. Coll. Exper. For. Hokkaido Univ. **17**, 151—178.

— —, and — —, 1954 b: A method for determining the degree of wood decay by nail-holding power. Res. Bull. Coll. Exper. For. Hokkaido Univ. **17**, 179—216.

Hubert, E. E., 1924: The diagnosis of decay in wood. J. Agric. Res. **29**, 523—567.

Proctor, P., 1941: Penetration of the walls of wood cells by the hyphae of wood-destroying fungi. Yale Univ., New Haven, School of For., Bull. 47, 31 S.

Rennerfelt, E., 1946: Über die Wurzelfäule (*Polyporus annosus* Fr.) in Schweden. (Schwedisch m. dtsch. Zusammenfassg.) Meddel. stat. Skogsforskninginstitut **35**, 1—88.

Saho, H., 1953: On the measurement of decay durability through the boring-test on "Sugi" wood test pieces. J. Jap. Forst Soc. **35**, 359—363.

Trendelenburg, R., 1940: Über die Abkürzung der Zeitdauer von Pilzversuchen an Holz mit Hilfe der Schlagbiegeprüfung. Holz a. Roh- u. Werkst. **3**, 397—407.

— —, 1939: Das Holz als Rohstoff. 1. Aufl. München-Berlin, 435 S.

Institute of Plant-Pathology and Entomology, Uppsala 7, Sweden
Director: Prof. Dr. K. Björling

A preliminary report of virus diseases of cereals in Sweden

By

Klas Lindsten

With 4 figures

Introduction

In the southern part of Norrland in Sweden a severe disease of cereals, especially oats, frequently occurs which has been called the "Bollnäs-disease" after the place where it was first observed. The symptoms of the disease quite often appear as a dwarfing and an excessive tillering of the oat plants. The leaves start to exhibit a more or less reddish colour, and the development of panicles is sparse or will not occur at all. Frequently the yield of grain in such diseased fields is negligible.

There has been much disagreement regarding the cause of the disease. Those especially concerned with the disease consider, however, that different species of mites are the main causal agents (Ahlberg 1958, Johansson 1953, 1956, 1958 and Sömermaa 1956, 1957, 1958).

In Finland a similar disease has attacked the oat crop so severely that this crop cannot be cultivated in wide regions. Kanervo, Heikinheimo, Raatikainen and Tinnilä (1957) have demonstrated the disease to be in some way associated with *Calligypona* (Delphacodes) *pellucida* (F.). A theory that the disease might be caused by a hitherto unknown virus, distributed by *Calligypona pellucida*, was proposed by Heikinheimo (1957), but this has never been proved. On the contrary, Nuorteva (1958) came to the conclusion that the disease is not caused by a virus but must be a phytotoxaemia caused by the saliva of the mentioned leafhopper itself.

The present author has been working on virus diseases of cereals and grasses in Sweden during the last two years and in the following a preliminary report is given of some of the grass viruses found in the area of the "Bollnäs-disease".

Different effects on plants caused by leafhoppers of the same species

Leafhoppers of the species, *Calligypona pellucida,* were collected from different localities both within and outside of the disease-region. The leafhoppers were then tested in the glass house on plants of oats, wheat and barley in the seedling stage. In general three insects were put on each test plant growing in a small pot covered with a cage (Fig. 1). The feeding period on the test plants was two to six days.

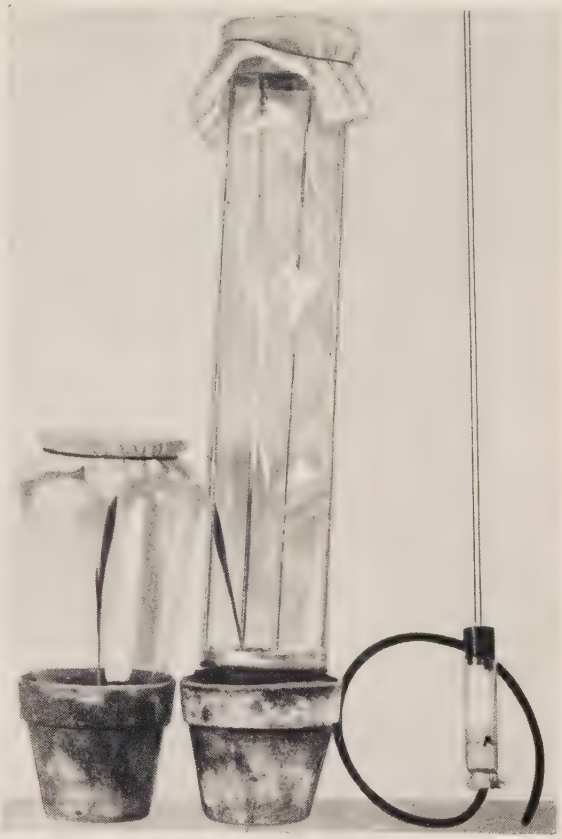


Fig. 1. Isolation cages which were put over the test plants during the feeding period of the leafhoppers. To the right a suction-apparatus for transmission of leafhoppers. Photo by P. Barkman

In this way leafhoppers from 15 different localities within the disease-region and 12 from localities outside it were tested. Of the latter, two localities were situated in the vicinity of Uppsala, six in the vicinity of Stockholm and four in the province of Östergötland. The last four places were about 250 miles south of the area of the disease. With respect to the effects on the test plants, the investigation showed, that there are at least three different types of *Calligypona pellucida*-leafhoppers.

First, leafhoppers without visible effect on the test plants were found in 24 of the 27 above localities.

Second, at 21 of the localities leafhoppers occurred causing white streaks, mainly on the leaves, which on oats later changed to be reddish (Fig. 2). This kind of symptom has been called vIIa-type.

Third, in the area of disease, but only here, leafhoppers occurred which caused dwarfing and excessive tillering of the oat plants (Fig. 3). The leaf tips often turn to a brown-reddish colour and the youngest leaf dies. On wheat and barley plants, which were colonized by leafhoppers of this type, the symptoms do not appear until about two weeks later than on oats. On the whole wheat as well as barley also seem to tolerate this latter type of

disease better, but their leaves get a yellowish discolouration and often the youngest leaf gradually dies. Unlike oats such affected plants, especially of wheat, develop heads. The symptoms caused by leafhoppers of this third kind has been called vIIb-type.

Fig. 2. Symptoms on oats (variety Seger) caused by virus II a. In the picture to the left there are white streaks on the basal part of the leaf blade and on the leaf sheath. The picture to the right is of the same plant taken 3 weeks later when the panicle has entirely emerged. The white discolouration is now changing to a reddish colour. The symptoms vary somewhat with the environment and especially the red discolouration will become more conspicuous at lower temperatures. Plants of oats as well as wheat and barley, if infected in the seedling stage, will generally die before the emergence of panicles. Photo by P. BARKMAN

From the statements above, it seems to be clear that there can hardly be more than two possibilities regarding the cause of the disease:

1) *Calligypona pellucida* is a vector of a pathogen, which consequently is the real cause of the disease.

2) Certain individuals of the leafhoppers, but not all, have a strong phytotoxic substance, e. g. in the saliva, which to a very considerable extent and in two distinct ways damages the plants.

Evidences indicating that the damage is caused by virus

In the following some statements will be made which according to the author's opinion strongly indicate that the symptoms of the vIIa- as well as the vIIb-type are caused by one or two viruses and not by a toxin.

A) Plants being colonized by vIIa- or vIIb-symptom-inducing leafhoppers grow normally (as untreated plants) during two to four weeks.

B) The symptoms on plants of the vIIa- as well as the vIIb-type are very specific and in several respects similar to those of some known virus

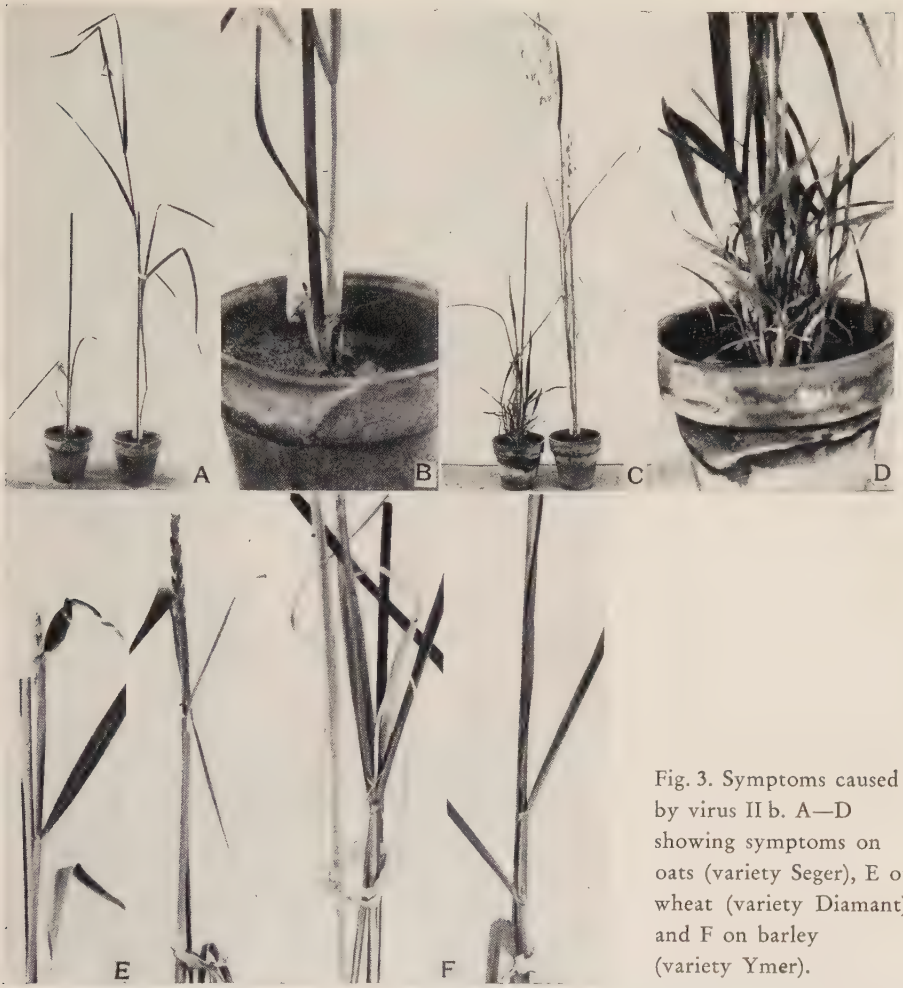


Fig. 3. Symptoms caused by virus II b. A—D showing symptoms on oats (variety Seger), E on wheat (variety Diamant) and F on barley (variety Ymer).

A) To the left an infected and to the right an untreated plant. Infection at one-leaf stage. photographed eight weeks after the infection. B) A close-up of the infected plant. C) and D) As in A and B respectively but photographed 17 weeks after the infection. E) and F) To the left infected and to the right untreated plants of wheat and barley respectively. Notice the discolouration and the damage to the youngest leaves of the infected plants. Photo by P. Barkman

diseases of cereals [cf. striate mosaic (Slykhuis 1953 and 1958 and Slykhuis & Watson 1958) and "zakuklivanie" (Sukhov & Vovk 1938 a, Sukhov & Petlyuk 1940 and Sukhov & Sukhova 1940)].

C) Both the vIIa- and the vIIb-type have systemic symptoms, which appear also after infection of older plants (Fig. 4).

D) The number of the leafhoppers and the length of the feeding period on the test plants seem to have only a minor influence on the symptoms, provided a certain time has passed since the leafhoppers first came in contact

with diseased plants. It has thus been demonstrated that a test feeding period of three hours with one disease-inducing leafhopper can be enough to cause the typical vIIb-symptoms. Probably a still shorter feeding period is sufficient to induce these symptoms. The same is probably valid for the vIIa-symptoms too.

E) Experiments have been made to transmit the disease-inducing agent from diseased plants to healthy test plants by means of non-infectious leafhoppers, which were found to be unable to cause symptoms in previous serial transmissions, and so far successful transmissions have been made by such leafhoppers from five different plants with vIIa-symptoms and from four different plants with vIIb-symptoms. The vector, however, seems only with difficulty to be able to acquire the disease agent, and a latent period in the vector of two to four weeks seems to be required before it can cause infection. Once the vector has become infectious, it rather easily transmits the disease to a series of new plants for a long period of time. Thus, serial transmissions of three to one (the experiment started with three leafhoppers but later on two died) infectious leafhoppers to ten successive test plants have been made with a feeding period of two to ten days on each plant, and in several of these series also the last of the test plants showed vIIb-symptoms.

From the statements made under A-E the author has come to the conclusion that *Calligypona pellucida* is a vector of at least two viruses with widely

Fig. 4. Plants of oats infected at the six-leaf stage with virus II a (A) and virus II b (B) respectively. The picture is showing the appearance eight weeks after the infection. To the right a close-up of the basal parts of the plants showing the differences in tillering. Photo by P. BARKMAN

different symptoms, which in this preliminary report will be called virus IIa and virus IIb. A third virus of cereals occurring in the "Bollnäs-disease"-region has been called virus I, and is transmitted by the aphids *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Macrosiphum granarium* (Kirby). Virus I, which seems to be of only minor importance in this area, is probably closely related to cereal yellow-dwarf virus (Oswald & Houston 1953).

Virus IIa and IIb are similar in several respects, e. g. time of incubation in the vector and in the host plants, and ways of transmission (none of them has been possible to transmit mechanically and transmission through seed or soil does not seem to occur according to the author's experiments, transmission by aphids, mites and the leafhopper *Macrosteles laevis* (Rib.) has also failed) indicating that the two viruses have much in common.

The symptoms caused by virus IIa and virus IIb respectively are, however, entirely different (cf. Fig. 2, 3 and 4). Morever, the investigations have shown that one and the same leafhopper can carry both of the viruses as well as one plant can be infected with both. This indicates that cross-protection between the viruses is probably low or absent.

Discussion

If the viruses, called virus IIa and virus IIb in this report, should be classified as strains of the same virus or as different viruses carried by the same vector is still questionable and depends somewhat upon the opinion of classification (cf. strains of maize streak virus in Smith 1957 and in Storey 1937). The quite different symptoms caused by the viruses as well as the evidence of little or no cross-protection indicate, however, that the viruses are not closely related.

Slykhuis (1953) described striate mosaic, a virus disease of wheat in U. S. A., which in several respects seems to be related to the disease on wheat caused by virus IIa. Recently Slykhuis also found a similar disease in Europe, which he demonstrated to be caused by a virus transmitted by *Calligypona pellucida* (Slykhuis 1958 and Slykhuis & Watson 1958). Virus IIa seems to be identical with this latter one reported by Slykhuis. A disease caused by this virus is probably widely distributed in Northern Europe (Slykhuis 1958). Disease symptoms on cereals of similar kind have also been reported from Czechoslovakia but any definite demonstration of its cause has not been given (Dlabola 1958 and Prusa 1958).

Virus IIb does not seem to be identical with any so far described virus but it resembles the Russian "zakuklivanie"-virus in several respects regarding the disease caused (cf. e. g. Sukhov & Vovk 1938 a and 1938 b, Sukhov & Petlyuk 1940 and Sukhov & Sukhova 1940). The external symptoms are, however, not identical and inclusion bodies in epidermal cells, typical of the Russian disease, have not been found in plants infected with virus IIb.

The disease caused by virus IIb alone or in association with virus IIa is probably identical with the damage to oats described by Kanervo, Hei-

KINHEIMO, RAATIKAINEN and TINNILÄ (1957) and NUORTEVA (1958). A similar disease also seems to occur in Czechoslovakia (KLINKOWSKI & KREUTZBERG 1958, DLABOLA 1958 and PRUSA 1958).

Summary

In the provinces of southern Norrland in Sweden a cereal disease occurs causing heavy losses especially of oats. The disease has been known for at least 20 years and there has been much disagreement concerning its cause.

In this area the present author has found leafhoppers of the species *Calligypona pellucida* (F.), which regarding their effects on cereal plants can be divided into three groups:

1) Those which cause no disease symptoms.

2) Those causing light streaks at first and later a more or less reddish colour on the leaves of oat plants.

3) Those causing a characteristic dwarfiness and excessive tillering of oat plants.

Under A-E evidences are given, which according to the author's opinion, strongly indicate that the diseases distributed by *Calligypona pellucida* are virus diseases and not a phytotoxaemia caused by the leafhopper itself.

The two viruses causing the symptoms described under 2) and 3), respectively, have much in common but do not seem to be closely related.

The virus called virus IIa in the present report seems to be identical with the striate mosaic virus demonstrated by SLYKHUIS. Virus IIb, however, is more likely to be a new virus which somewhat resembles the Russian "zakuklivanie"-virus.

Zusammenfassung

In den südlichen Provinzen der schwedischen Landschaft Norrland kommt eine Getreidekrankheit vor, die besonders beim Hafer schwere Ertragseinbußen verursacht. Die Krankheit ist seit wenigstens 20 Jahren bekannt, über die Ursache derselben sind aber die Meinungen weit verschieden.

Der Verfasser der vorliegenden Arbeit ist in diesen Landesteilen auf Zirpen der Art *Calligypona pellucida* (F.) gestoßen, die betreffs ihrer Wirkung auf Getreidepflanzen in drei Gruppen eingeteilt werden können:

1. Solche, die keine Krankheitssymptome hervorrufen.
2. Solche, die anfangs weißliche Striche und später einen mehr oder weniger rötlichen Farbton auf den Blättern des Hafers erzeugen.
3. Solche, die einen charakteristischen Zwergwuchs und reichliche Bestockung des Hafers verursachen.

Die in den Abschnitten A-E angeführten Feststellungen zeigen nach Ansicht des Verfassers eindeutig, daß die durch *Calligypona pellucida* verschleppten Krankheiten Virosen und nicht von der Zirpen selbst verursachte Vergiftungen sind.

Die zwei Viren, die die unter Punkt 2 bzw. 3 beschriebenen Symptome hervorrufen, stimmen in vielem überein, doch scheinen sie nicht besonders nahe verwandt zu sein.

Das in der vorliegenden Arbeit als Virus IIa bezeichnete Virus scheint mit dem von Slykhuis nachgewiesenen Streifenmosaikvirus identisch zu sein. Virus IIb dagegen ist sehr wahrscheinlich ein neues Virus, das in gewisser Hinsicht an das russische „zakuklivanie"-Virus erinnert.

References

Ahlberg, O., 1958: Undersökningar över "Bollnässjukan". Statens växtskyddsanst. Medd. **11**, 71—72, 1—3.

Dlabola, J., 1958: *Calligypona pellucida* Fabr. — ein Haferschädling und eventueller Vektor einer Getreidevirose. Nachr.bl. dt. Pflz.schutzd. Berlin, n. F. **12**, 36—38.

Heikinheimo, O., 1957: Über die Wiesenzirpe *Delphacodes pellucida* (F.) (Hom., Auchenorrhyncha) als Haferschädling in Finnland. IV. Intern. Pflz.-Schutzkongr. Hamburg.

Johansson, E., 1953: Några fakta angående bollnässjukan. Växtkyddsnotiser **3**, 33—38.

— —, 1956: Bollnässjukan. Nord. Jordbruksf. **38**, 420—424.

— —, 1958: Havresjukan ej identisk med Bollnässjukan. Jord-gröda-djur 1958, 157.

Kanervo, V., et al., 1957: The leafhopper *Delphacodes pellucida* (F.) (Hom., Auchenorrhyncha) as the cause and distributor of the damage to oats in Finland. Publ. of the Finn. St. Agr. Res. Board. No. 160.

Klinkowski, M., und G. Kreutzberg, 1958: Vorkommen und Verbreitung von Gramineenvirosen in Europa. Phytopath. Z. **32**, 1—24.

Nuorteva, P., 1958: On the nature of the injury to plants caused by *Calligypona pellucida* (F.) (Hom., Areopidae). Ann. Ent. Fennici **24**, 2, 49—59.

Oswald, J. W., and B. R. Houston, 1953: The yellow-dwarf virus disease of cereal crops. Phytopathology **43**, 128—136.

Prusa, V., 1958: Die sterile Verzwergung des Hafers in der Tschechoslowakischen Republik. Phytopath. Z. **33**, 99—107.

Slykhuis, J. T., 1953: Striate mosaic, a new disease of wheat in South Dakota. Phytopathology **43**, 537—540.

— —, 1958: A survey of Virus Diseases of Grasses in Northern Europe. FAO Plant Protection Bull. VI, 9.

— — and M. A. Watson, 1958: Striate mosaic of cereals in Europe and its transmission by *Delphacodes pellucida* (Fabr.) Ann. Appl. Biol. **46**, 542—553.

Smith, K. M., 1957: A textbook of plant virus diseases. London.

Storey, H. H., 1937: A new virus of maize transmitted by *Cicadulina spp.* Ann. Appl. Biol. **24**, 87—94.

Sukhov, K. S., and P. T. Petlyuk, 1940: *Delphax striatella* F. as a vector of the virus disease zakuklivanie in grains. C. R. Ac. Sc. URSS **26**, 483—486.

— —, and M. N. Sukhova, 1940: Interrelations between the virus of a new grain mosaic disease and its carrier, *Delphax striatella* F. Ibid. **26**, 479—482.

— —, and C. R. Vovk, 1938 a: Mosaic disease of oats. Ibid. **19**, 207—210.

— —, and — —, 1938 b: Mosaic of cultivated cereals and how it is communicated in nature. Ibid. **20**, 745—748.

Sömermaa, K., 1956: Vitaxkvalstrens *Siteroptes* (Pediculoides) *graminum* Reut. skadegörelse i vetefält. Växtskyddsnot. **4**, 1—8.

— —, 1957: Statens växtskyddsanstalts undersökningar rörande den s. k. Bollnässjukan i Hälsingland år 1956. Tidskr. f. Hushålln. sällsk. o. Skogsvårdsstyr. i Gävleb. län. **33**, 3, 75—80.

— —, 1958: Bollnässjukan och dess bekämpande. Jord-gröda-djur 1958, 150—153.

Stations fédérales d'essais agricoles Lausanne
Domaine du Château de Changins

Note préliminaire sur deux souches peu virulentes du virus de la nécrose des nervures du tabac

Par

O. Aubert

Introduction

Le virus de la nécrose des nervures du tabac (VNNT) ou virus de la maladie des côtes brunes (Tabakrippenbräune) provoque d'ordinaire, sur le tabac White Burley, une grave nécrose des nervures et du limbe des feuilles. Cependant, il arrive souvent que le caractère nécrotique de certaines souches de ce virus s'atténue et disparaisse presque complètement. Un cas de ce genre (souche Lü) a été signalé par Bartels (1958). Sur les plantes infectées par ces souches peu virulentes, la nécrose apparaît tardivement et se cantonne sur la nervure médiane; les nécroses du limbe sont très rares ou absentes et font place à un «veinbanding» souvent bien tranché. On pourrait penser que ce symptôme est dû à la présence du virus Y de la pomme de terre, dont une souche ordinaire aurait été associée au VNNT. Il arrive souvent en effet que ces deux virus infectent simultanément la même plante mais, dans ce cas, il est facile d'isoler le virus Y ordinaire. Si, au contraire, ce dernier est absent et que l'on tente d'isoler le caractère «veinbanding», on finit par obtenir une souche stable dont la virulence est plus ou moins atténuée.

Propriétés des deux souches étudiées

La souche YN 1a est apparue lors d'un essai effectué pour déterminer la longévité d'un isolat du VNNT trouvé en Suisse italienne. Conservée pendant près de deux ans, cette souche est demeurée stable, malgré de nombreuses transmissions effectuées, soit au moyen d'un seul puceron par plante test, soit au moyen d'un inoculum dilué 10 000 fois.

Ce virus provoque sur le tabac White Burley un éclaircissement des nervures, un léger affaissement des feuilles, puis du «veinbanding»; enfin, mais souvent trois semaines seulement après l'inoculation, une faible nécrose apparaît à la base des côtes des feuilles. HOLLINGS (1957) a montré que le VNNT, à l'inverse du virus Y ordinaire, ne donne pas de nécroses locales sur *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn.; à cet égard, YN 1a se comporte, en général, comme le VNNT. La limite de dilution du virus est d'environ 1/100 000, son point d'inactivation thermique se situe entre 60 et 62 °C. et sa longévité, in vitro et à la température ordinaire, est de 15 à 20 jours. Enfin, des essais de prémunition ont montré, d'une part, que la souche YN 1a protège le tabac contre le VNNT et, d'autre part, que le virus Y ordinaire ne protège pas cet hôte contre YN 1a. C'est à dire que la souche YN 1a, malgré sa faible virulence à l'égard du tabac, est beaucoup plus étroitement apparentée au VNNT qu'au virus Y ordinaire.

Le virus M 3a est issu de la souche M 3 de KLINKOWSKI et SCHMELZER[1]) (1957). Comme il était intéressant de savoir si cette souche allemande du VNNT était aussi susceptible que les souches helvétiques de donner des lignées «atténuées», nous l'avons soumise à une série de transmissions, effectuées au moyen de pucerons ou d'inoculums dilués. Non seulement des lignées peu virulentes ont été obtenues, mais le caractère nécrotique lui-même a pu être complètement éliminé.

La souche isolée, appelée M 3a, donne sur le tabac les symptômes suivants: un éclaircissement des nervures précède un faible «veinbanding», régulier et continu, qui s'atténue plus tard. Sur les feuilles plus jeunes, apparaissent des taches chlorotiques rondes et diffuses (le «Perlmuster» des auteurs allemands), dont la coalescence à l'extrémité du limbe peut donner naissance à un nouveau et faible «veinbanding». En été, les symptômes peuvent être presque complètement masqués. Comme la souche M 3, M 3a ne donne pas de lésions locales sur *Ch. amaranticolor*. La limite de dilution et le point d'inactivation thermique sont respectivement de 1/100 000 et de 58 à 60 °C.

On pourrait induire de l'observation des symptômes provoqués par la souche M 3a sur le tabac que ce virus n'est qu'une souche particulière du virus Y ordinaire. Cependant, des essais de prémunition nous ont montré qu'il n'en est rien. En effet, M 3a protège le tabac totalement contre la souche M 3, presque complètement contre une autre souche du VNNT, YN 3[2]), et partiellement contre une troisième souche de ce type, YN 4[3]). En revanche, la prémunition exercée par M 3a à l'égard de la souche ordinaire YO 2[4])

[1]) Je remercie ici M. le Dr. K. SCHMELZER d'avoir eu l'obligeance de m'envoyer la souche M 3.

[2]) Souche du VNNT trouvée en 1957 en Suisse; c'est l'agent infectieux responsable des premières épidémies de nécrose des nervures qui dévastèrent les champs de White Burley, mais épargnèrent le Mont-Calme Brun et le Mont-Calme Jaune.

[3]) Cette nouvelle souche du VNNT, apparue en 1958, n'épargne aucune des variétés de tabac cultivées en Suisse, y compris les hybrides de White Burley qui avaient été sélectionnés récemment par le Centre de recherches de la SOTA, à Lausanne, et qui étaient résistants à la souche YN 3.

[4]) Souche du virus Y ordinaire tirée d'une pomme de terre Bintje.

est à peu près nulle. On constate donc une parenté étroite entre M 3a et M 3, une parenté un peu moins évidente entre M 3a d'une part et YN 3 et YN 4 d'autre part; enfin M 3a et YO 2 ne sont apparentés que sérologiquement.

Discussion

Des souches peu virulentes comme YN 1a apparaissent fréquemment et spontanément lorsqu'on transmet le VNNT d'un tabac à l'autre. Cette évolution dans le sens d'une atténuation de la virulence n'est pas réversible, sinon exceptionnellement. Il est possible que ces souches faibles naissent par mutation à partir des souches typiques du VNNT et qu'elles l'emportent sur celles-ci grâce à quelque avantage sélectif.

A la suite des premières recherches effectuées sur le VNNT, on a eu tendance à le considérer comme une entité bien définie, sérologiquement apparentée, il est vrai, au virus Y de la pomme de terre, mais nettement distincte des souches dites ordinaires. La réalité est plus complexe puisqu'une souche que l'on pourrait considérer à première vue comme ordinaire (M 3a) est plus étroitement apparentée à certaines souches nécrotiques (M 3, YN 3) qu'à une autre souche ordinaire (YO 2). Inversément, il est possible que des souches nécrotiques soient plus proches parentes de certaines souches ordinaires que les souches du VNNT que nous avons étudiées.

Devant la menace que constitue pour la culture du tabac le VNNT et tout particulièrement les nouvelles souches du type YN 4, contre lesquelles nous sommes absolument démunis, on pourrait envisager, dans un but thérapeutique, l'emploi de la souche M 3a ou, mieux encore, d'une souche analogue, mais plus étroitement apparentée à YN 4; il suffirait donc d'infecter assez tôt les champs de tabac au moyen de ces souches bénignes pour les prémunir contre le VNNT. On sait toutefois le danger de cette méthode (interférences avec d'autres virus, mutations toujours possibles), si bien qu'une telle solution ne saurait être que provisoire, en attendant que de nouveaux hybrides résistants puissent être sélectionnés.

Zusammenfassung

Das Tabakrippenbräune-Virus — ein nekrotischer Stamm des Kartoffel-Y-Virus — spaltet oft schwache Stämme ab, welche auf den Tabakblättern wenig oder keine Nekrose verursachen. Obschon die Symptome dieser schwachen Stämme eine gewisse Ähnlichkeit mit denen der Normalstämme des Y-Virus aufweisen, sind sie dem Rippenbräune-Virus eng verwandt, was durch Prämunitätsversuche bewiesen wurde.

Summary

Tobacco veinal necrosis virus — a necrotic strain of potato virus Y — frequently gives rise to mild strains, which produce few or no necrotic lesions

on tobacco leaves. These strains are closely related to veinal necrosis virus, as it has been demonstrated by cross protection tests, although their symptoms are quite similar to those of "ordinary" strains of virus Y.

Bibliographie

Bartels, R., 1958: Serologische Differenzierungsversuche mit Stämmen des Kartoffel-Y-Virus. Proc. 3d Conf. Pot. Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, 13—19.

Hollings, M., 1957: Reactions of some additional plant viruses on *Chenopodium amaranticolor*. Pl. Pathology **6**, 133—135.

Klinkowski, M., und K. Schmelzer, 1957: Beiträge zur Kenntnis des Virus der Tabak-Rippenbräune. Phytopath. Z. **28**, 285—306.

Kurze Mitteilungen

Aus dem Phytopathologischen Institut
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Zur Frage der serologischen Verwandtschaft zweier Virusisolate von Rhabarber mit dem Kohlrübenmosaik-Virus

Von

CHRISTIANE SCHADE

Über die Einordnung der spontan auf Rhabarber vorkommenden Viren in bestimmte Verwandtschaftskreise bestehen bisher nur Vermutungen (YALE and VAUGHAN 1954, VAN HOOF 1956, CHANNON 1955, 1956, KLINKOWSKI 1959). In England ist wahrscheinlich das Kohlrübenmosaik-Virus (syn. cabbage black ring spot virus) auf Rhabarber nachgewiesen, da CHANNON (1956) mehrmals ein Virus von *Rheum* isoliert hat, das auf Indikatorpflanzen Symptome des Kohlrübenmosaik-Virus (KMV) ergab.

Auf Rhabarberfeldern in der Umgebung von Halle beobachteten wir eine Viruskrankheit, die nach mechanischer Übertragung auf Testpflanzen ebenfalls das typische Krankheitsbild des KMV hervorrief. Zum Beispiel traten auf den abgeriebenen Blättern von *Nicotiana tabacum* nekrotische Lokalläsionen auf, denen keine systemische Infektion folgte. Eine Verwandtschaft dieses Isolats mit dem KMV war anzunehmen.

Bei einem zweiten Virus, das KLINKOWSKI (1959) von Rhabarber isolierte, hat er auf Grund der ähnlichen physikalischen Eigenschaften ebenfalls verwandtschaftliche Beziehungen zum KMV vermutet. Es war deshalb von Interesse zu prüfen, ob die beiden Virusisolate serologisch mit dem KMV verwandt sind. Die Untersuchung wurde mit Hilfe der serologischen Präzipitinreaktion durchgeführt.

Es wurde folgendes Virusmaterial verwendet:

a) Das Kohlrübenmosaik-Virus (KMV) erhielten wir von Herrn Reg.-Rat Dr. BODE, Braunschweig[1]).

b) Das von Rhabarber aus einem Feldbestand bei Halle isolierte Virus wird als Isolat B_2 bezeichnet. Über dieses Virus wird an anderer Stelle eingehend berichtet.
Beide Viren wurden auf *N. tabacum* L., Sorte „White Burley", übertragen und nach fünf Tagen, von je einer Einzelläsion ausgehend, auf *N. glutinosa* L. und *Petunia hybrida*, Sorte „Ratsherr", weitervermehrt.

c) Das Rhabarbermosaik-Virus (RMV) stellte uns Herr Prof. Dr. KLINKOWSKI[1]) zur Verfügung. Dieses Isolat von Rhabarber wurde seit einigen Jahren auf *Cucumis sativus* L., Sorte „Delikatess", gehalten.

Um geeignete Antigenlösungen für die Immunisierung der Kaninchen gegen das KMV und das Isolat B_2 zu erhalten, behandelten wir den Preßsaft, der etwa 3 Wochen p. i. aus Blättern von *N. glutinosa* bzw. *Petunia hybrida* gewonnen wurde, in ähnlicher Weise wie es MARTINI (1957) beschrieben hat. Der rohe Saft wurde 10 Minuten bei 2000 U/min (500 g) zentrifugiert, der Überstand 10 Minuten lang auf 48 °C erwärmt, abgekühlt und 25 Minuten bei 4000 U/min (2500 g) zentrifugiert. Daran schloß sich eine zweistündige Zentrifugierung des geklärten Überstandes bei 17 000 U/min (22 000 g). Das Sediment wurde in 1/10 Vol 0,05 m gepufferter Borsäure pH 8,8 (nach CLARK und LUBS) aufgenommen. Nach kurzer Zentrifugierung der Viruslösung bei 3000 U/min (1000 g) erfolgte die Injektion. Die Kaninchen erhielten 5 Dosen von 1 bis 3 ml in fünftägigem Abstand. Die Blutentnahme geschah 10 Tage nach der letzten Injektion. Die Seren hatten Titer von 1/1024 bis 1/4096 und besaßen keine bzw. wenige Antikörper gegen normale Pflanzeneiweiße, die durch Absättigung (1 : 1) mit Preßsaft gesunder Pflanzen entfernt wurden.

Das RMV wurde auf die gerade entfalteten Kotyledonen von Gurkenkeimlingen verrieben und die Pflanzen 2 bis 3 Wochen p. i. zur Antigenherstellung verwendet. Zu dieser Zeit enthalten die Keimblätter sehr viele normale Pflanzeneiweiße. Um diese weitgehend zu entfernen, wurde der rohe Preßsaft aus infizierten Gurkenkeimlingen nach STEERE (1956) mit 1 Vol Butanol + 1 Vol Chloroform 15 Minuten lang gerührt, die Mischung 30 Minuten lang zentrifugiert (1000 g), die obere wässerige Schicht abpipettiert und diese Flüssigkeit für 16 bis 20 Stunden bei Zimmertemperatur im verschlossenen Gefäß aufbewahrt. Daran schloß sich eine halbstündige Zentrifugierung (5300 g) und die Fällung des Virus mit 50%igem Aceton, wie sie BERCKS und GEHRING (1957) für das Tabakringfleckenvirus beschrieben haben. Die Lösung der abzentrifugierten Fällung erfolgte in 1/10 Vol der ursprünglichen Preßsaftmenge mit 0,01 m Phosphatpuffer pH 7. Nach Entfernung der unlöslichen Bestandteile durch Zentrifugieren (10 Minuten 2500 g) wurde das Antigen zur Injektion verwendet. Diese erfolgte während 3 Wochen jeweils an 3 aufeinanderfolgenden Tagen mit anschließender dreitägiger Pause. Die Dosen betrugen in der ersten Woche 1 bis 2 ml, in der folgenden 2 bis 3 ml

[1]) Herrn Prof. Dr. KLINKOWSKI und Herrn Reg.-Rat Dr. BODE danke ich für die Überlassung des Virusmaterials.

und in der letzten 3 bis 4 ml. Die Blutentnahme geschah 6 bis 10 Tage nach der letzten Injektion. Die Serumtiter betrugen 1/128 bis 1/2048. Um die Antikörper gegen normale Pflanzeneiweiße zu beseitigen, wurden die Seren 1 : 1 mit dem Saft gesunder Gurkenpflanzen abgesättigt.

Die Reaktionen der drei erforderlichen Antiseren mit den zu prüfenden Viren wurden mit Hilfe der Präzipitinmethode im Tropfen erhalten. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse, die nur für eine Verdünnungsstufe jedes Antiserums wiedergegeben sind, da lediglich festgestellt werden sollte, ob eine Verwandtschaft der Virusisolate mit dem KMV besteht.

Tabelle

Serologische Prüfung
der Verwandtschaft zweier Virusisolate von Rhabarber mit dem Kohlrübenmosaik-Virus*)

Antiserum und Serumtiter	Antiserum-verdünnung	Antigen	Virusverdünnung								
			unverdünnt	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Kohlrübenmosaik-Virus 1/1024	1/4	KMV	+++	+++	++	++	++	++	+	+	0
		Isolat B_2	++	++	+	+	+	0	0	0	0
		RMV	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Isolat B_2 von Rhabarber 1/2048	1/8	Isolat B_2	+++	+++	++	+	+	+	0	0	0
		KMV	+++	+++	++	++	++	+	+	±	0
		RMV	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhabarber-mosaik-Virus 1/2048	1/4	RMV	++	++	++	+	+	+	±	0	0
		KMV	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Isolat B_2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) Die relative Stärke der Reaktionen wird durch die Zeichen: +++, ++, +, ± angegeben, 0 = kein Präzipitat.

Die positive Kreuzreaktion der Antiseren des KMV und des Isolats B_2 beweist die Verwandtschaft der beiden Viren. *Petunia hybrida,* Sorte „Ratsherr", die zur Reaktion verwendet wurde, erwies sich als sehr empfindliche Wirtspflanze. Der Virustiter des KMV war bei *Petunia* höher als bei gleichzeitig infizierten Pflanzen von *N. glutinosa* L., *Matthiola annua* Sweet und *Cheiranthus cheiri* L. Der Virustiter des Isolats B_2 lag stets unter dem des KMV. Da auch in der Symptomausbildung charakteristische Unterschiede zwischen den beiden Viren auftraten, sind sie wahrscheinlich serologisch als verschiedene Stämme des KMV zu differenzieren.

Die KMV- und B_2-Antiseren ergaben keine Reaktion mit dem RMV. Da das RMV-Antiserum ebenfalls in keiner der angewandten Konzentrationen (Titer des abgesättigten Serums 1 : 2048) mit dem KMV oder dem Isolat B_2 reagierte, besteht keine serologische Verwandtschaft zwischen dem RMV und den beiden Kohlrübenmosaik-Viren.

Gegen eine Verwandtschaft des KMV mit dem RMV sprechen auch unterschiedliche Eigenschaften der Viren, die sich im Laufe der Versuche zur Gewinnung geeigneter Antigenlösungen herausstellten. Bei Anwendung der üblichen Ammoniumsulfat- oder Acetonfällung verlor das KMV stark an In-

fektiosität, wie der Abreibeversuch auf *N. tabacum* zeigte. Das RMV blieb in beiden Fällen infektiös und konnte mit Hilfe der Acetonfällung angereichert werden.

Ein deutlicher Unterschied zeigt sich ferner im Krankheitsverlauf unter gleichen Temperaturverhältnissen. Während das Temperaturoptimum für die Vermehrung des KMV oberhalb von 24 °C liegt (Pound u. Walker 1945), Broadbent 1957), ist der Infektionserfolg mit dem RMV bei diesen Temperaturen nur noch gering. (Klinkowski 1959, Klinkowski und Opel 1957). Temperaturen über 24 °C beschleunigen bei KMV-infizierten Pflanzen die Symptomausbildung und verstärken sie bei einigen Wirten. Das RMV bildet bei derartigen Temperaturen nur schwache Symptome aus.

Es wird in weiteren Versuchen geprüft, ob das RMV in einen anderen Verwandtschaftskreis gehört oder ein bisher unbekanntes Virus darstellt.

Zusammenfassung

Die serologische Untersuchung zweier Virusisolate von Rhabarber ergab, daß eines der Isolate serologisch mit dem Kohlenrübenmosaik-Virus (KMV) verwandt ist. Damit ist Rhabarber als natürliche Wirtspflanze des KMV nachgewiesen. Für das zweite Virus (Rheum virus 1 Klinkowski) konnte keine serologische Verwandtschaft mit dem KMV festgestellt werden.

Summary

The serological investigation of two virus isolates of the rhubarb gave the result that one of the isolates is serologically related to the cabbage black ring spot virus (KMV). Herewith the rhubarb is proved to be a natural hostplant of the KMV. For the other virus (Rheum virus 1 Klinkowski) this relationship could not be determined.

Literaturverzeichnis

Bercks, R., und F. Gehring, 1957: Über Verwandtschaftsbeziehungen und Konzentrationsverhältnisse bei Viren der Tabak-Ringspot-Gruppe. Phytopath. Z. **28**, 57—69.

Broadbent, L., 1957: Investigation of virus diseases of *Brassica* crops. Cambridge.

Channon, A. G., in W. G. Keyworth, 1955: Plant Pathology Report. Rep. nat. veg. res. stat., Warnick **5**, 1954, 58—61.

— —, in — —, 1956: Plant Pathology Report. Rep. nat. veg. res. stat., Warnick, **6**, 1955, 50—55.

Hoof, H. A. van, 1956: Virusziekte bij rabarber. Meded. dir. tuinbouw **19**, 761—764.

Klinkowski, M., 1959: Das „Rhabarbermosaik"-Virus. IV. Internat. Pflschtzkongr. Hamburg 1957, im Druck.

— —, und H. Opel, 1957: Die Gurke (*Cucumis sativus* L.) als Wirtspflanze des Rhabarbermosaik-Virus. Z. Pflanzenkrankh. **64**, 445—451.

Martini, Ch., 1957: Versuche zur Reinigung und Herstellung der Antiseren von Blumenkohlmosaik (cauliflower mosaic virus) und Schwarzringfleckigkeit des Kohles (cabbage black ring spot virus). Naturwiss. **44**, 426—427.

Pound, G. S., and J. C. Walker, 1945: Differentiation of certain crucifer viruses by the use of temperature and host immunity reactions. J. Agr. res. **71**, 255—278.

Steere, R. L., 1956: Purification and properties of Tobacco ringspot virus. Phytopathology **46**, 60—69.

Yale, J. W., and E. K. Vaughan, 1954: Ringspot-like viroses of rhubarb. Phytopathology **44**, 118—122.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Virusserologie, Braunschweig

Über die antigene Wirksamkeit des Rübenmosaik-Virus

Von

R. Bercks und G. Stellmach

Chester hat im Jahre 1937 (1) das Rübenmosaik-Virus (sugar beet mosaic) unter diejenigen Viren eingereiht, die nach seinen Erfahrungen nicht antigen wirken. In der Folgezeit sind keine weiteren Veröffentlichungen über die serologischen Eigenschaften des Rübenmosaik-Virus erschienen, so daß Matthews im Jahre 1957 (2) dieses Virus in eine Liste von Viren aufgenommen hat, die bei serologischen Prüfungen negative Resultate ergeben haben. Vermutlich sind trotz der negativen Befunde von Chester in der Vergangenheit weitere vergebliche Versuche unternommen worden. Da wir in jüngster Zeit von derartigen Bemühungen erfahren haben, teilen wir einige vorläufige Ergebnisse eigener Untersuchungen mit.

In Vorversuchen gelang es uns nicht, mit Hilfe kranker Rübenpflanzen ein Serum gegen das Mosaikvirus herzustellen, obwohl diese Wirtspflanze ohne große Schwierigkeiten als Antigen-Lieferant für ein Antiserum gegen das Vergilbungsvirus (beet yellows) benutzt werden kann. Dagegen erhielten wir bei Verwendung von mosaik-infizierten Mangold (*Beta vulgaris* var. *cicla*)- und Vogelmiere (*Stellaria media*)-Pflanzen Antiseren bis zu einem Titer von 1 : 128. Teilweise traten starke Mitreaktionen gegen normales Pflanzeneiweiß auf. Aus diesem Grunde haben wir die Seren mit Säften gesunder Pflanzen vorbehandelt. Die ersten positiven Reaktionen erzielten wir bei der Prüfung von infizierter Vogelmiere, und zwar sowohl mit Säften von symptomtragenden als auch z. T. von symptomlosen Blättern kranker Triebe. Der Nachweis an Rüben- und Mangold-Pflanzen gelang uns zunächst nur auf indirektem Wege. Dazu versetzten wir Antiserum mit Saft kranker Rüben- bzw. Mangold-Pflanzen und prüften anschließend gegen Saft von infizierter Vogelmiere. Die Seren ergaben dann keine Reaktion mehr, weil die Antikörper durch die Vorbehandlung gebunden worden waren, ohne daß dies zu einer sichtbaren Reaktion geführt hatte. Bei Vorbehandlung mit Säften gesunder Pflanzen reagierten die Seren noch.

In weiteren Versuchen zeigte sich, daß grundsätzlich auch ein direkter Virusnachweis in Säften von Mangold- und Rübenpflanzen möglich ist. Damit ist bewiesen, daß das Rübenmosaikvirus antigene Eigenschaften besitzt.

Die Untersuchungen werden mit dem Ziel fortgesetzt, die Wirksamkeit der Seren zu erhöhen und die Bedingungen für den Virusnachweis näher zu untersuchen.

Literaturverzeichnis

1. Chester, K. St., 1937: Serological studies of plant viruses. Phytopathology **27**, 903—912.

2. Matthews, R. E. F., 1957: Plant Virus Serology. Cambridge, 128 S.

Aus der Abteilung Forstschädlingsbekämpfung der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt in Göttingen

Untersuchungen über die elektrostatische Ladung der *Lophodermium*-Sporen

Von

K. Rack

Mit 2 Abbildungen

Bei der Registrierung des jahreszeitlichen Sporenfluges mit Hilfe einer Sporenfalle (2) ergaben sich Hinweise dafür, daß die Haftfähigkeit der Sporen wesentlich von elektrischen Kräften bestimmt wird (3). Diese interessante Beobachtung konnte zunächst nicht weiter untersucht werden, da das übliche Lichtmikroskop ungeeignet ist für Sporenauszählungen auf elektrisch ladbaren Metallplatten. Mit Hilfe des im Jahre 1957 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellten Auflichtmikroskops konnten nunmehr die erstrebten Versuche durchgeführt werden.

1. Methode und Beschreibung der Sporenfalle

In die Öffnung (ϕ = 70 mm) des kürzeren Armes eines ungleichen Rohrwinkels ist ein 8 mm starker Ring (Ri) aus isolierendem Material (Pertinax) eingelassen und befestigt. Dieser trägt an seinem Innenrand 2 × 4 korrespondierende Fugen (Fu) zum Einklemmen der auswechselbaren metallischen Fangscheiben (S). An den vier unteren Fugen ist die Spannungsquelle (+ — + —) angeschlossen. Der längere Arm des Rohrwinkels ist vertikal orientiert und mündet in eine Art Venturidüse (V), bestehend aus einem horizontalen nach beiden Seiten sich trichterförmig erweiterndem Rohr (s. Abb. 1 a). Das ganze System hängt an einem Kugellager (K). Mittels einer Wetterfahne (W) dreht es sich stets so, daß die untere Öffnung gegen den Wind steht. Diese enthält die vier elektrisch geladenen Metallplatten (S), deren Flächen parallel zur einströmenden Luft verlaufen. Das ebenfalls dem ankommenden Wind zugekehrte Venturirohr beschleunigt die durch das Gerät strömende Luft (3). An den kurzen Schenkel des Rohrwinkels ist ein Blechgehäuse (B) gelötet, welches die Spannungsquelle (75 V Hochleistungsanode) vor Regen und Feuchtigkeit schützt. Da auch die + bzw. — geladenen Fang-

platten unbedingt vor Nässe geschützt werden müssen (Kurzschlußgefahr), ist auf das betreffende Rohrende ein weiteres Rohrstück (G) gesteckt.

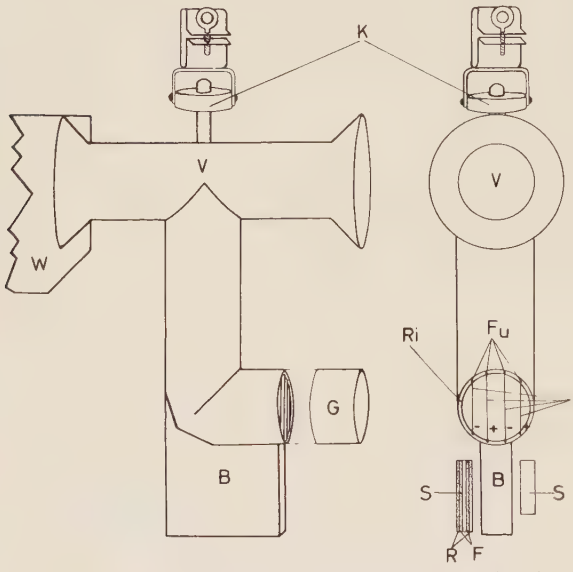


Abb. 1a Abb. 1b

Abb. 1 a und 1 b.

B Blechbehälter für 75 Volt Hochleistungsanode
F Beobachtungsstreifen der mittleren Flächenzone
Fu gefederte Fugen zum Einklemmen der Fangscheiben
G aufgestecktes Rohr (Regenschutz)
K Kugellager
Ri Ring aus isolierendem Material (Pertinax)
R Beobachtungsstreifen am Rand
S große und kleine Fangscheiben (70 bzw. 55 mm lang)
V Venturirohr
W Wetterfahne

Mit dem beschriebenen Gerät konnte nun festgestellt werden, ob die Sporen des Schüttepilzes eine elektrische Ladung haben; denn nach den elektrostatischen Gesetzen müssen positiv geladene Partikeln vorwiegend auf den negativ geladenen Platten haften et vice versa. Da die unter Spannung stehenden vier Messingplatten windparallel orientiert sind, wurde ihr Sporenbelag jeweils auf beiden Seiten erfaßt. Schon nach den ersten Auszählungen fiel auf, daß sich die Sporen bevorzugt an den Randpartien der Fangflächen ansammelten. Vom 23. 8. 1957 an wurde deshalb zwischen Randzonen und mittleren Flächenzonen unterschieden. Bei der Auswertung wurde folgendermaßen verfahren: Die zu untersuchende Fangscheibe kam auf einen in die Haltevorrichtung des Kreuztisches eingespannten Objektträger. Durch entsprechende Einstellung des Kreuztisches und Querverschiebungen konnten die Sporen auf jeweils vier 1 mm breiten (8 × 10) Beobachtungsstreifen ausgezählt werden. Davon entfielen zwei Streifen auf die Randzonen, die restlichen beiden auf die mittleren Flächenpartien (Abb. 1 b, R und F). Die je Versuchseinheit durchmusterte Fläche auf positiv bzw. negativ geladenen Fangplatten beträgt demnach:

1 lange (70 mm) + 1 kurze (55 mm) Platte = 2 Seiten × (70 + 55) = 1000 mm².

2. Freilandversuch 1957

Das Versuchsgerät wurde am 23. 7. 1957 in einer 5jährigen Kiefernstreifensaat aufgehängt (Fanghöhe = 1 m). Die Fangscheiben wurden nach

2- bis 7tägiger Expositionszeit auf ihren jeweiligen Sporenbelag mit Hilfe des Auflichtmikroskopes untersucht (s. oben). Die Ergebnisse der Sporenzählung sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Tabelle 1

Expositionszeit	Zahl der Sporen auf 1000 mm² + Metallfläche Rand		Mitte	1000 mm² — Metallfläche Rand		Mitte	Wind*)
23.7.—25. 7.		0			0		100
25.7.—31. 7.		0			0		70
31.7.— 5. 8.		0			0		60
5.8.— 9. 8.		1			1		25
9.8.—15. 8.		0			0		150
15.8.—20. 8.		0			4		40
20.8.—23. 8.		0			8		30
23.8.— 3. 9.	0		0	21	+	1	100
3.9.— 9. 9.	0		0	5	+	1	20
9.9.—16. 9.	2	+	0	28	+	12	110
16.9.—23. 9.	7	+	0	37	+	8	35
23.9.— 1.10.	1	+	0	4	+	4	64
Summen		11			140		

*) Wind = Summe der relativen Windgeschwindigkeiten während der Exposition.

3. Freilandversuch 1958

Das gleiche Fanggerät wurde 1958 in einer 7jährigen Kultur aufgestellt. Der Schüttebefall dieser Kultur war wesentlich stärker als in der Versuchsfläche des Vorjahres. Demgemäß erhöhte sich — trotz größerer Fanghöhe (1,60 m) — die Zahl der haftenden Sporen beträchtlich. Das Ergebnis darf als eindeutig und gesichert betrachtet werden (s. Tab. 2).

Tabelle 2

Exponiert vom	Zahl der Sporen auf 1000 mm² + Metallfläche Rand		Mitte	1000 mm² — Metallfläche Rand		Mitte
21. 8.—27. 8.	0		0	100	+	75
27. 8.— 2. 9.	2	+	2	11	+	6
2. 9.— 9. 9.	0		0	47	+	29
9. 9.—16. 9.	1	+	0	127	+	72
16. 9.—23. 9.	1	+	1	100	+	113
23. 9.—29. 9.	0	+	3	105	+	105
29. 9.— 3.10.	0	+	1	65	+	72
3.10.— 8.10.	0	+	1	9	+	15
8.10.—16.10.	3	+	0	105	+	82
16.10.—29.10.	1	+	0	69	+	80
Summen	8	+	8 = **16**	738	+	629 = **1367**

4. Ergebnisse

Auf den elektrisch geladenen Metallplatten wurden 1957 insgesamt 151 Sporen ausgezählt. Davon entfallen 140 (= 92,7 %) auf die negativ geladenen Fangflächen. Im Sommer und Herbst 1958 wurden insgesamt 1383 Sporen erfaßt. Diese hatten sich wieder fast ausschließlich (zu 98,8 %) an den negativ geladenen Platten angesammelt. Das Ergebnis zeigt eindeutig, daß die in der Luft schwebenden *Lophodermium*-Sporen eine positive Ladung haben. Sie werden also von den negativ geladenen Kiefernnadeln elektrostatisch angezogen. Dieser Befund ist ein weiteres Beispiel dafür, daß neue technische Erkenntnisse, in diesem Falle das Elektrostäuben (1,4), häufig in der Natur schon verwirklicht sind. Die getrennte Auszählung der Randpartien und der mittleren Flächenzonen führt zu einem Resultat, das vermuten läßt, daß die Sporen bevorzugt am Rande haften. Ob dieser Vorgang aerodynamisch oder elektrostatisch bedingt ist, kann zur Zeit nicht entschieden werden. In Tabelle 1 ist für jeden Einzelversuch auch noch die relative Windgeschwindigkeit angegeben. Es kann jedoch kein Einfluß des Windes auf das elektrostatisch bedingte Haften der Sporen festgestellt werden.

5. Versuche im Laboratorium

Wenn man davon ausgeht, daß die nasse Nadelstreu, aus der die Sporenwolken aufsteigen, mehr oder weniger „geerdet" ist, so wäre im Gegensatz zu obigem Befund eine negative Ladung der Sporen zu erwarten. Man muß deshalb zunächst annehmen, daß die Sporen entweder beim Ausschleudern automatisch positiv aufgeladen werden oder später als schwebende Partikeln eine Umladung erfahren. Die folgenden Versuche sollen klären, welche von diesen beiden Möglichkeiten zutrifft.

a) Methode. In einer Petrischale befinden sich von unten nach oben (s. Abb. 2):

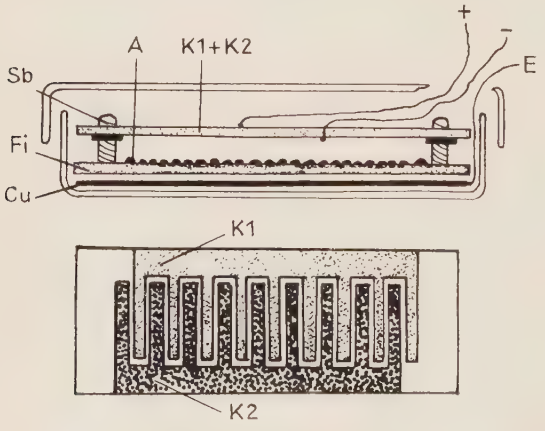


Abb. 2.

A reife Fruchtkörper von *Lophodermium pinastri* Schrad. Chev.
Cu Kupferring
E Erdleitung
Fi Filterpapier
K 1 } gegensätzlich geladene
K 2 } Metallkämme
Sb Schraube zum Verstellen des Abstandes zwischen Fruchtkörpern und Fangkämmen

1. Ein Kupferring, über den das Substrat geerdet bzw. elektrisch geladen werden kann (Cu).

2. Aufliegend drei nasse Rundfilter (Fi) als Substrat.

3. Darauf zahlreiche reife Fruchtkörper des Pilzes (A).

4. Über den Fruchtkörpern ist ein Objektträger angebracht, auf dessen Unterseite zwei ineinandergeschobene elektrisch isolierte Stanniolkämme (K 1 und K 2) mittels Paraffin aufgeklebt sind; ihr Abstand von den Fruchtkörpern kann durch ein Schraubengewinde (Sb) beliebig eingestellt werden.

Der Erdanschluß liegt an der Dampfheizung; die elektrische Spannung wird aus der gleichen Batterie wie im Freiland bezogen (75-Volt-Hochleistungsanode). Die Zuleitungen (+, — und Erdung) laufen durch eine Aussparung im Deckel der Petrischale.

b) Durchführung. Vorgequollene Nadelsegmente werden in engem Verband so auf die nassen Filterscheiben gelegt, daß ihre reifen Fruchtkörper nach oben schauen. Zwei bis drei Millimeter über ihnen (s. unten) werden die beiden gegensätzlich geladenen Metallkämme angebracht. Der im feuchten Substrat liegende Kupferring wird geerdet. Die verschlossene Petrischale bleibt 48 Stunden bei Zimmertemperatur auf dem Labortisch stehen. Danach wird mit dem Auflichtmikroskop der Sporenbelag auf den beiden Metallkämmen ermittelt.

c) Ergebnis. Zunächst waren einige Vorversuche erforderlich, um den richtigen Abstand zwischen den sporenausschleudernden Fruchtkörpern und den darüber angebrachten beiden Metallkämmen zu finden. Zwischenräume bis zu 1,5 mm erwiesen sich als zu klein. Bei solchen Höhen ist die kinetische Energie der ausgeschleuderten Sporen offenbar noch so groß, daß die elektrostatischen Kräfte die Flugrichtung nicht wesentlich beeinflussen. Die Folge davon ist eine gleichmäßige Verteilung der Sporen auf den beiden gegensätzlich geladenen Kämmen. Andererseits waren Distanzen von mehr als 3,5 mm zu groß. In diesen Fällen erreichten keine oder nur sehr wenig Sporen die Fangflächen. Abstände von 2 bis 3 mm waren dagegen geeignet und wurden auch bei obiger Versuchsanordnung eingehalten.

Das Ergebnis zeigt, daß die Sporen die Fruchtkörper vorwiegend oder ausschließlich negativ geladen verlassen:

Tabelle 3

Zahl der Sporen auf	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Summe	
Positivem Kamm ..	7	372	235	305	919	83 %
Negativem Kamm..	0	0	73	121	194	

Sehr wahrscheinlich ist der geringe, auf dem negativen Kamm ermittelte Sporenanteil gar nicht positiv geladen: Die Flugrichtungen der Sporen streuen um etwa 120 °, je nach Lage der rosettenförmig angeordneten Asci; außerdem dürfte die Vehemenz des Ausschleuderns von Fruchtkörper zu Fruchtkörper

oder sogar von Ascus zu Ascus verschieden sein. Die Umkehrpunkte der Flugparabeln liegen also keinesfalls in einer Ebene, und die Fangfläche kann bestenfalls in die Ebene der mittleren, vertikalen Reichweite gebracht werden. Demnach ist die kinetisch bedingte Richtungsstabilität der einzelnen Sporen in der Fangebene verschieden. Überschreitet sie eine gewisse Größe, so haften die Sporen unabhängig von den relativ schwachen elektrischen Kräften. Auf Grund dieser Verhältnisse ist die Annahme wohl berechtigt, daß praktisch alle ausgeschleuderten Sporen unter den genannten Versuchsbedingungen eine negative Ladung aufweisen. Nun ist aber nicht erwiesen, daß im Freiland die gleichen Voraussetzungen gegeben sind wie beim Laborversuch. Die Erdung des Substrates scheint vor allem zumindest quantitativ von den Freilandverhältnissen abzuweichen. Deshalb wurde der gleiche Versuch wiederholt, ohne das Substrat, d. h. die Fruchtkörper, zu erden (s. Tab. 4).

Tabelle 4

Sporenanflug
auf positiv bzw. negativ geladenen Fangplatten ohne Erdung des Substrates

Zahl der Sporen auf	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Summe	
Positivem Kamm ..	662	52	80	288	1072	83 %
Negativem Kamm..	10	0	55	160	225	

Das Ergebnis bleibt unverändert. Daraus darf wohl geschlossen werden, daß auch unter natürlichen Bedingungen die Sporen zunächst negativ geladen sind, später aber eine Umladung erfahren, denn in 1 bis 1,6 m Fanghöhe erwiesen sie sich fast ausnahmslos als positive Partikel (s. oben).

Hieraus ergibt sich eine höchst interessante Folgerung:

Die gleichwertige Ladung der Sporen gegenüber ihrem Substrat verhindert, daß die frisch ausgeschleuderten Sporen schon in Bodennähe zum Haften kommen. Erst später, wenn die Sporen vom Wind erfaßt, eine größere Höhe gewonnen haben, erfolgt die Umladung, die nun zu einer Hafttendenz gegenüber den Nadeln führt.

Literaturverzeichnis

1. GÖHLICH, H., 1958: Elektrostatische Aufladung von Pflanzenschutzstaub. VDI-Berichte, S. 65—70.

2. RACK, K., 1955: Über die Bedingungen und den Verlauf der Schütteinfektion im Sommerhalbjahr 1954. Forst- u. Holzwirt **10**, 224—225.

3. — —, 1957: Beschreibung und Arbeitsweise eines einfachen Sporenfanggerätes. Z. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz **64**, 332—340.

4. SHREEVE, N. G., 1957: Electrodusting. World Crops, May.

Handbuch des gesamten Gemüsebaues

einschließlich der Küchenkräuter

Von

Dr. h. c. J. BECKER-DILLINGEN

6., neugestaltete Auflage. 1956. 770 Seiten mit 253 Abbildungen und zahlreichen Tabellen. Ganzleinen DM 78,—

Das „Handbuch des gesamten Gemüsebaues" von J. BECKER-DILLINGEN ist seit über 30 Jahren das umfassendste Standardwerk über den Gemüsebau in deutscher Sprache. Es behandelt eingehend alle Fragen des Gemüsebaues, seine Wirtschafts- und Marktgrundsätze und seine Technik von der Freilandkultur bis zur Gemüsetreiberei. Sämtliche gebräuchlichen Gemüsearten werden entsprechend ihrer wirtschaftlichen Bedeutung ausführlich behandelt; für den Praktiker besonders wertvoll sind die präzisen, auf jede Gemüseart bezogenen Angaben über Sorten, Saat, Wachstumsbedingungen, Fruchtfolge, Düngung, Krankheiten und Schädlinge, Nahrungswert und Verwertung.

„Der Verfasser hat es verstanden, sein Handbuch trotz lawinenhafter Häufung des Stoffes nicht umfangreicher werden zu lassen, sondern den Inhalt von einer Auflage zur anderen straffer zu fassen. Das Handbuch ist eine Fundgrube für viele praktische Hilfen und gibt dem Anfänger wie dem Fortgeschrittenen, dem Praktiker wie dem Lehrenden und Lernenden wertvolle Auskunft über die vielen anfallenden Fragen." Gartenbauwissenschaft

Die Kulturpraxis der Schnittblumen und Topfpflanzen

Lehr- und Handbuch für den neuzeitlichen Gärtnereibetrieb

Von

C. REITER und F. BÖHMIG

8., von F. BÖHMIG neubearbeitete Auflage. 1958. 690 Seiten mit 602 Abbildungen. Ganzleinen DM 64,—

„Die Kulturpraxis der Schnittblumen und Topfpflanzen" ist ein bewährtes Standardwerk, das in hervorragendem Maße den Belangen des in der praktischen Arbeit stehenden Blumen- und Zierpflanzengärtners gerecht wird. Alle neuzeitlichen Erfahrungen der Praxis und Fortschritte der Wissenschaft, besonders hinsichtlich der Sorten, des Gewächshausbaues, der Heizungsanlagen, der Treiberei und der Schädlingsbekämpfung, wurden berücksichtigt.

„Über die Beliebtheit des vorliegenden Werkes brauchen wohl keine Worte verloren zu werden. Unsere Väter schätzten es, und auch unsere Generation benützt es als wertvolles Nachschlagewerk. Im gesamten bringt das Werk eine umfassende, leicht verständliche Darstellung der Kulturmaßnahmen, der Düngung, des Pflanzenschutzes, der technischen Einrichtungen, einer Beschreibung der Kalt- und Warmhauspflanzen, des Freilandgemüsebaues und vieler anderer wissenswerter Dinge in der zum Verständnis der Dinge notwendigen Ausführlichkeit. Das ausgezeichnete, allen Anforderungen der heutigen Zeit entsprechende Werk wird jedem Gärtner, Lehrling, Fachschulstudenten, Förderungsbeamten und auch Liebhaber sicherlich wertvolle Dienste leisten." Die Gartenbauwirtschaft

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Wir liefern aus:

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur

Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Reg.-Rat Dr. J. BÄRNER

Die „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" wurde erstmals 1921 herausgegeben. Bis 1944 erschienen nacheinander 21 Bände, die eine Zusammenfassung der gesamten Weltliteratur bis zum Jahr 1939 enthielten. Inzwischen wurde die Reihe fortgesetzt, und es sind seitdem folgende Bände erschienen:

1940—1950 Zwei Bände.	1356 Seiten. Broschiert	DM 97,—
1946—1947	501 Seiten. Broschiert	DM 44,50
1948—1949	730 Seiten. Broschiert	DM 65,—
1950	479 Seiten. Broschiert	DM 42,—
1951	464 Seiten. Broschiert	DM 38,—

Soeben erschien:

1952	474 Seiten. Broschiert	DM 43,—

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie

auf der 14. Mitglieder-Versammlung zu Göttingen am 24. und 25. Oktober 1957

Im Auftrage der Gesellschaft herausgegeben von Dr. GÜNTHER BECKER

1959. 152 Seiten mit 67 Abbildungen und 17 Tabellen. Broschiert DM 20,—

Aus dem Inhalt:

Eröffnung und Verleihung der Karl-Escherich-Medaille / FRIEDERICHS, K.: Bestehen in Kulturbiotypen Lebensgemeinschaften? / WIESMANN, R.: Neue Erkenntnisse über die Insektizidresistenz / KRUEL, W.: Anwendung und Ergebnisse biologischer Bekämpfungsmaßnahmen gegen forstschädliche Insekten in der Sowjetunion / FRANZ, J.: Entomologisches aus Amerika / KIRCHBERG, E.: Über einige Musciden von hygienischer Bedeutung / PETERS, W.: Zur Schmeißfliegenbekämpfung — Untersuchungen mit Lockstoffen / BRITZ, L.: Beispiele aus der Praxis der Freilandstechmücken-Bekämpfung (*Diptera, Culicidae*) / DÖHRING, E.: Plagen durch verwilderte Haustauben / BOVEY, P.: Beobachtungen über die letzte Lärchenwicklergradation in der Schweiz / JAHN, E.: Beobachtungen zum Massenauftreten des grauen Lärchenwicklers in Österreich in den Jahren 1954—1957 / KARAFIAT, H.: Die Latenzperiode der Tannenstammlaus *Adelges* (*Dreyfusia*) *piceae* Ratz.; einige dabei neu beobachtete Gesetzmäßigkeiten und deren Steuerung durch Außenfaktoren / GAUSS, R.: *Liothrips setinodis* Rtr. (1880) (*Thysanoptera, Tubulifera*) als Schädling an Weißtannen-Jungpflanzen / SCHWERDTFEGER, F.: Ökologische Freilandarbeit in der Forstentomologie / SCHÜTTE, F.: Methoden zur Erfassung der Baum- und Strauchfauna / STEIN, W.: Über den Einfluß von Vogelschutzmaßnahmen auf den Insektenbestand im Eichenwald / OHNESORGE, B.: Die Gradation der Kleinen Fichtenblattwespe *Pristiphora abietina* (Christ) in Nordwestdeutschland / THALENHORST, W.: Vergleichende Untersuchungen über den Massenwechsel der Fichten-Nematinen / WELLENSTEIN, G.: Die Trophobiose der Waldameisen und ihre bienenwirtschaftliche Bedeutung / SCHINDLER, U.: Zur chemischen Bekämpfung des Kiefernknospentriebwicklers (*Evetria buoliana* Schiff.) / SCHMUTTERER, H.: Versuche zur Fritfliegenbekämpfung mit Aldrin und Dieldrin / STEINER, H.: Die Arthropoden des Apfelbaumes, ihre jahreszeitliche Verteilung und Möglichkeiten zur Ermittlung ihres Schädlichkeits- und Nützlichkeitsgrades / NIKLAS, O. F.: Periodik einiger Mortalitätsfaktoren beim Engerling (*Melolontha spec.*) / FRANCKE-GROSMANN, H.: Über die Ambrosiazucht holzbrütender Ipiden im Hinblick auf das System / LÜSCHER, M.: Ersatzgeschlechtstiere bei Termiten und die Beeinflussung ihrer Entstehung durch die *Corpora allata*.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG